Aus dem Institut für Medizinische Mikrobiologie,
Infektions- und Seuchenmedizin
des Fachbereichs Tiermedizin der Universität München
Vorstand: Prof. Dr. Dr. h. c. A. Mayr
Angefertigt unter der Leitung von Priv.-Doz. Dr. G. Wizigmann

---

Vergleichende Wirksamkeitsbestimmungen von Rindergrippeimpfstoffen im homologen und heterologen Wirtssystem

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
des Fachbereichs Tiermedizin
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Jörg Schmidt
aus Tübingen

München 1975

Aus dem Institut für Medizinische Mikrobiologie,
Infektions- und Seuchenmedizin
des Fachbereichs Tiermedizin der Universität München
Vorstand: Prof. Dr. Dr. h. c. A. Mayr
Angefertigt unter der Leitung von Priv.-Doz. Dr. G. Wizigmann

---

Vergleichende Wirksamkeitsbestimmungen von Rindergrippeimpfstoffen im homologen und heterologen Wirtssystem

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
des Fachbereichs Tiermedizin
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Jörg Schmidt
aus Tübingen

München 1975

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Tiermedizin
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. B. Vollmerhaus

Referent: Priv.-Doz. Dr. G. Wizigmann

Korreferent: Prof. Dr. I. Gylstorff

Tag der Promotion: 21. Februar 1975

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
1.	EINLEITUNG	1
2.	SCHRIFTTUM	2
2.1	GRUNDLAGEN FÜR DIE ENTWICKLUNG PRÄ- UND POSTNATALER IMMUNITÄT	2
2.1.1	Unspezifische und spezifische Mechanismen der Infektabwehr	2
2.1.2	Die immunkompetente Zelle	2
2.1.3	Immunologisch wirksame Gammaglobulinfraktionen	5
	2.1.3.1 IgG	6
	2.1.3.2 IgA	6
	2.1.3.2.1 Sekretorisches IgA	7
	2.1.3.3 IgM	7
2.1.4	Die Beziehung zwischen Antigenmenge und Antikörperproduktion	8
	2.1.4.1 Primär- und Sekundärantwort	8
	2.1.4.2 Affinität zwischen Antikörper und Antigen	9
2.1.5	Pränatale Immunität	9
2.1.6	Postnatale Immunität	10
	2.1.6.1 Passive Immunität und Vakzinierung	11
	2.1.6.2 Passive Immunität und Infektionskrankheiten	13
2.2	RINDERGRIPPE	15
2.2.1	Begriffsbestimmung der Rindergrippe	15
2.2.2	Ätiologie der Rindergrippe	15
	2.2.2.1 Infektionserreger	15
	2.2.2.2 Streßfaktoren	16
2.2.3	Wirtschaftliche Aspekte	17
2.2.4	Prophylaxe der Rindergrippe	18
	2.2.4.1 Immunprophylaxe gegen die Rindergrippe	18

Seite

2.3 VIRUSINFEKTIONEN BEIM RIND UND IHRE BEKÄMPFUNG DURCH IMMUNPROPHYLAXE 20

2.3.1 Parainfluenza-3-Virus 20
2.3.1.1 Antikörper und Immunität 20
2.3.1.1.1 Neutralisierende Antikörper 20
2.3.1.1.2 Hämagglutinationshemmende Antikörper 21
2.3.1.1.3 Komplementbindende Antikörper 22
2.3.1.1.4 Kolostralimmunität 22
2.3.1.2 Impfstoffe gegen die PI-3-Infektion 23
2.3.1.2.1 Impfstoffe aus inaktivierten Erregern 24
2.3.1.2.1.1 Virusstämme für die Impfstoffherstellung 24
2.3.1.2.1.2 Inaktivierung von PI-3-Virus 24
2.3.1.2.1.3 Adjuvantien 25
2.3.1.2.1.4 Wirksamkeitsbestimmung im Rind 26
2.3.1.2.1.5 Wirksamkeitsbestimmung im heterologen Versuchstier 29
2.3.1.2.2 Impfstoffe aus attenuierten, vermehrungsfähigen Erregern 34
2.3.1.2.2.1 Virusstämme für die Impfstoffherstellung 34
2.3.1 2.2.2 Attenuierung von PI-3-Virus zur Impfstoffherstellung 34
2.3.1.2.2.3 Wirksamkeitsbestimmung im Rind 35
2.3.1.2.2.4 Wirksamkeitsbestimmung im heterologen Versuchstier 37

2.3.2 Reoviren
2.3.2.1 Antikörper und Immunität 41
2.3.2.1.1 Neutralisierende Antikörper 41
2.3.2.1.2 Hämagglutinationshemmende Antikörper 41
2.3.2.1.3 Komplementbindende Antikörper 42
2.3.2.1.4 Kolostralimmunität 43
2.3.2.2 Impfstoffe gegen die Reovirus-Infektion 43
2.3.2.2.1 Impfstoffe aus inaktivierten Erregern 43
2.3.2.2.1.1 Herstellung der Impfstoffe 44
2.3.2.2.1.2 Wirksamkeitsbestimmung im Rind 44
2.3.2.2.1.3 Wirksamkeitsbestimmung im heterologen Versuchstier 45

Seite

2.3.3 Bovine Adenoviren 46
2.3.3.1 Antikörper und Immunität 46
2.3.3.1.1 Neutralisierende Antikörper 46
2.3.3.1.2 Hämagglutinationshemmende Antikörper 47
2.3.3.1.3 Komplementbindende Antikörper 47
2.3.3.1.4 Präzipitierende Antikörper 47
2.3.3.1.5 Kolostralimmunität 47
2.3.3.2 Impfstoffe gegen BAV-Infektionen 48
2.3.3.2.1 Impfstoffe aus inaktivierten Erregern 48
2.3.3.2.1.1 Herstellung der Impfstoffe 48
2.3.3.2.1.2 Wirksamkeitsbestimmung im Rind 49
2.3.3.2.1.3 Wirksamkeitsbestimmung im heterologen Versuchstier 50
2.3.3.2.2 Impfstoffe aus attenuierten, vermehrungsfähigen Erregern 50

2.3.4 Infektiöse bovine Rhinotracheitis-Infektiöse pustulöse Vulvovaginitis-Virus 51
2.3.4.1 Antikörper und Immunität 52
2.3.4.1.1 Neutralisierende Antikörper 52
2.3.4.1.2 Komplementbindende Antikörper 52
2.3.4.1.3 Kolostralimmunität 53
2.3.4.2 Impfstoffe gegen die IBR-IPV-Infektion 53
2.3.4.2.1 Impfstoffe aus inaktivierten Erregern 53
2.3.4.2.1.1 Herstellung der Impfstoffe 53
2.3.4.2.1.2 Wirksamkeitsbestimmung im Rind 54
2.3.4.2.2 Impfstoffe aus attenuierten, vermehrungsfähigen Erregern 55
2.3.4.2.2.1 Herstellung der Impfstoffe 55
2.3.4.2.2.2 Standardbedingungen bei der Impfstofflizensierung 56
2.3.4.2.2.3 Wirksamkeitsbestimmung im Rind 58

2.3.5 Bovine Virusdiarrhoe-Mucosal Disease-Virus 63
2.3.5.1 Antikörper und Immunität 63
2.3.5.1.1 Neutralisierende Antikörper 64
2.3.5.1.2 Präzipitierende Antikörper 64
2.3.5.1.3 Komplementbindende Antikörper 65
2.3.5.1.4 Kolostralimmunität 65

Seite

2.3.5.2 Impfstoffe gegen die BVD-MD-Infektion 66
2.3.5.2.1 Impfstoffe aus inaktivierten Erregern 66
2.3.5.2.1.1 Herstellung der Impfstoffe 66
2.3.5.2.1.2 Wirksamkeitsbestimmung im Rind 67
2.3.5.2.2 Impfstoffe aus attenuierten, vermehrungsfähigen Erregern 67
2.3.5.2.2.1 Herstellung der Impfstoffe 68
2.3.5.2.2.2 Standardbedingungen bei der Impfstofflizensierung 68
2.3.5.2.2.3 Wirksamkeitsbestimmung im Rind 69
2.3.5.2.2.4 Wirksamkeitsbestimmung im heterologen Versuchstier 70

2.4 KOMBINATIONSIMPFSTOFFE 74

3. E I G E N E U N T E R S U C H U N G E N 81

3.1 MATERIAL UND METHODEN 81

3.1.1 Zellkulturen 81
3.1.2 Virusstämme 82
3.1.3 Viruszüchtung und Gewinnung des Virusmaterials 84
3.1.4 Virustitrationen 84
3.1.4.1 Titration der Infektiosität 84
3.1.4.2 Titration des Hämagglutinins 85
3.1.5 Impfstoffe 85
3.1.5.1 Impfstoff "RGV" 85
3.1.5.2 Impfstoff "A" 86
3.1.5.3 Impfstoff "B" 86
3.1.6 Tierversuche 87
3.1.6.1 Versuche mit Rindern 87
3.1.6.1.1 Impfungen mit Impfstoff "RGV" 87
3.1.6.1.2 Impfungen mit Impfstoff "A" 88
3.1.6.1.3 Gewinnung der Rinderseren für serologische Untersuchungen 88
3.1.6.2 Versuche mit Mäusen 89
3.1.6.2.1 Impfungen mit Impfstoff "RGV" 89

Seite

3.1.6.2.2 Impfungen mit Impfstoff "A" 89
3.1.6.2.3 Impfungen mit Impfstoff "B" 90
3.1.6.2.4 Gewinnung der Mäuseseren für serologische Untersuchungen 91
3.1.6.2.5 Inokulation von Virussuspensionen in Mäuse 91
3.1.6.2.6 Gewinnung der Mäuseseren 93
3.1.7 Prüfung der Rinder- und Mäuseseren auf bakterielle Kontamination 93
3.1.8 Serologische Untersuchungen 93
3.1.8.1 Hämagglutinationshemmungstest 93
3.1.8.1.1 PI-3 - HAH-Test 93
3.1.8.1.2 Reovirus - HAH-Test 94
3.1.8.2 Neutralisationstest 95
3.1.8.2.1 Röhrchen - N-Test 95
3.1.8.2.2 Mikro - N-Test 95

3.2 VERSUCHE UND ERGEBNISSE 96

3.2.1 Impfungen von Rindern mit den Impfstoffen "RGV" und "A" 96
3.2.1.1 Klinische Beobachtung nach der Impfung 96
3.2.1.2 Bildung von Serumantikörpern im Rind nach Impfung mit Impfstoff "RGV" 97
3.2.1.2.1 Serumantikörper gegenüber Parainfluenza-3-Virus 97
3.2.1.2.2 Serumantikörper gegenüber Reovirus Serotyp 1 98
3.2.1.2.3 Serumantikörper gegenüber Reovirus Serotyp 2 98
3.2.1.2.4 Serumantikörper gegenüber Reovirus Serotyp 3 99
3.2.1.2.5 Serumantikörper gegenüber BAV Serotyp 1 99
3.2.1.2.6 Serumantikörper gegenüber BAV Serotyp 3 99
3.2.1.2.7 Serumantikörper gegenüber BAV Serotyp 5 100
3.2.1.2.8 Zusammenfassende Übersicht über die Antikörperreaktionen bei Rindern nach Impfung mit Impfstoff "RGV" 104

Seite

3.2.1.3 Bildung von Serumantikörpern im Rind nach Impfung mit Impfstoff "A" 105
3.2.1.3.1 Serumantikörper gegenüber Parainfluenza-3-Virus 105
3.2.1.3.2 Serumantikörper gegenüber Reovirus Serotyp 1 105
3.2.1.3.3 Serumantikörper gegenüber BAV Serotyp 3 106
3.2.1.3.4 Serumantikörper gegenüber IBR-IPV-Virus 107
3.2.1.3.5 Serumantikörper gegenüber BVD-MD-Virus 107
3.2.1.3.6 Zusammenfassende Übersicht über die Antikörperreaktionen bei Rindern nach Impfung mit Impfstoff "A" 111

3.2.2 Impfungen von Mäusen mit den Impfstoffen "RGV", "A" und "B" 112
3.2.2.1 Klinische Beobachtungen nach der Impfung 112
3.2.2.2 Pathologisch-anatomische und histopathologische Untersuchungen 112
3.2.2.3 Bakteriologische Untersuchung 113
3.2.2.4 Bildung von Serumantikörpern in Mäusen nach Impfung mit Impfstoff "RGV" 113
3.2.2.4.1 Serumantikörper gegenüber Parainfluenza-3-Virus 113
3.2.2.4.2 Serumantikörper gegenüber Reovirus Serotyp 1 114
3.2.2.4.3 Serumantikörper gegenüber Reovirus Serotyp 2 114
3.2.2.4.4 Serumantikörper gegenüber Reovirus Serotyp 3 114
3.2.2.4.5 Serumantikörper gegenüber BAV Serotyp 1 114
3.2.2.4.6 Serumantikörper gegenüber BAV Serotyp 3 115
3.2.2.4.7 Serumantikörper gegenüber BAV Serotyp 5 115
3.2.2.5 Bildung von Serumantikörpern in Mäusen nach Impfung mit Impfstoff "A" 115
3.2.2.5.1 Serumantikörper gegenüber Parainfluenza-3-Virus 116
3.2.2.5.2 Serumantikörper gegenüber Reovirus Serotyp 1 116

Seite

3.2.2.5.3 Serumantikörper gegenüber Reovirus Serotyp 2 116
3.2.2.5.4 Serumantikörper gegenüber Reovirus Serotyp 3 117
3.2.2.5.5 Serumantikörper gegenüber BAV Serotyp 3 117
3.2.2.5.6 Serumantikörper gegenüber IBR-IPV-Virus 117
3.2.2.5.7 Serumantikörper gegenüber BVD-MD-Virus 117
3.2.2.6 Bildung von Serumantikörpern in Mäusen nach Impfung mit Impfstoff "B" 118
3.2.2.6.1 Serumantikörper gegenüber Parainfluenza-3-Virus 118
3.2.2.6.2 Serumantikörper gegenüber Reovirus Serotyp 1 118
3.2.2.6.3 Serumantikörper gegenüber Reovirus Serotyp 2 und 3 118
3.2.2.6.4 Serumantikörper gegenüber BAV Serotyp 3 119
3.2.2.7 Bildung von Serumantikörpern in Mäusen nach Inokulation vermehrungsfähiger Virusarten 119
3.2.2.7.1 Serumantikörper gegenüber Parainfluenza-3-Virus 121
3.2.2.7.2 Serumantikörper gegenüber Reoviren 121
3.2.2.7.3 Serumantikörper gegenüber bovinen Adenoviren 121
3.2.2.7.4 Serumantikörper gegenüber IBR-IPV-Virus 121
3.2.2.7.5 Serumantikörper gegenüber BVD-MD-Virus 122

3.2.3 Vergleichende Betrachtung der Wirksamkeit der Impfstoffe "RGV", "A" und "B" in Rindern und Mäusen 124
3.2.3.1 Wirksamkeit der Impfstoffe "RGV", "A" und "B" gegenüber Parainfluenza-3-Virus 125
3.2.3.1.1 Impfstoff "RGV" 125
3.2.3.1.2 Impfstoff "A" 125
3.2.3.1.3 Impfstoff "B" 125
3.2.3.2 Wirksamkeit der Impfstoffe "RGV", "A" und "B" gegenüber Reovirus Serotyp 1 126
3.2.3.2.1 Impfstoff "RGV" 126

Seite

3.2.3.2.2 Impfstoff "A" 126
3.2.3.2.3 Impfstoff "B" 126
3.2.3.3 Wirksamkeit des Impfstoffes "RGV" gegenüber Reovirus Serotyp 3 126
3.2.3.4 Wirksamkeit des Impfstoffes "RGV" gegenüber BAV Serotyp 1 127
3.2.3.5 Wirksamkeit der Impfstoffe "RGV", "A" und "B" gegenüber BAV Serotyp 3 127
3.2.3.5.1 Impfstoff "RGV" 127
3.2.3.5.2 Impfstoff "A" 127
3.2.3.5.3 Impfstoff "B" 128
3.2.3.6 Wirksamkeit des Impfstoffes "RGV" gegenüber BAV Serotyp 5 128

3.2.4 R-M-Quotienten für die vergleichende Wirksamkeitsbestimmung von Rindergrippeimpfstoffen in Rindern und Mäusen 135

4. B E S P R E C H U N G D E R E R G E B N I S S E 136

5. Z U S A M M E N F A S S U N G 141

6. L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S 144

1. EINLEITUNG

Die deutsche Landwirtschaft erleidet gegenwärtig infolge der Rindergrippe einen beträchtlichen Schaden. Allein für Bayern werden derzeit jährliche Einbußen für Totalverluste von Rindern von über 2,5 Mio. DM genannt.

Für die Rindergrippe, die eine "infektiöse Faktorenerkrankung" darstellt, werden hauptsächlich Viren, für den Ausbruch der Krankheit resistenzmindernde, nicht mikrobielle exogene und endogene Faktoren ("Streßfaktoren") verantwortlich gemacht. Bakterielle Sekundärinfektionen führen in der Regel zu Komplikationen.

Die erfolgreiche Bekämpfung der Rindergrippe kann nur unter Berücksichtigung der komplexen Ätiologie der Krankheit durchgeführt werden. Neben der Einschränkung von Infektionsquellen und der Beseitigung resistenzmindernder Faktoren stellt die gezielte Immunprophylaxe die wichtigste Maßnahme dar.
Dafür stehen zur Zeit zwei kommerzielle Impfstoffe und ein Versuchsimpfstoff zur Verfügung.

Aufgabe vorliegender Arbeit war es, die Wirksamkeit eines neu entwickelten Versuchsimpfstoffes und zweier kommerzieller Kombinationsimpfstoffe bezüglich ihrer antikörperstimulierenden Potenz vergleichend im homologen (Rind) und heterologen (Maus) Wirtssystem zu untersuchen.

2. S C H R I F T T U M

2.1 GRUNDLAGEN FÜR DIE ENTWICKLUNG PRAE- UND POSTNATALER IMMUNITÄT

2.1.1 Unspezifische und spezifische Mechanismen der Infektabwehr

Der Säugetierorganismus verfügt über unspezifische und spezifische Mechanismen, sich gegen eine Infektion zu schützen. Erstere werden als Resistenz und letztere als Immunität bezeichnet (89).
Die Resistenz umfaßt alle humoralen und zellulären Abwehrmechanismen, die dem Organismus zur Verfügung stehen.
Immunität bezeichnet einen Zustand, der auf eine spezifische Antwort des Organismus nach dem Kontakt eines dem "immunologischen Kontrollapparat" fremd erscheinenden Stoffes (Antigen oder Immunogen) zustande kommt (89).
Der wirksame Anteil dieses Antigens (Ag) besteht aus den antigenen Determinanten oder Haptengruppen, die auf der Oberfläche des Ag-Moleküls lokalisiert sind.
Das Ag muß, um eine Immunantwort zu bewirken, für den Organismus nicht primär schädlich sein, vielmehr muß es antigene Determinanten besitzen, die für den Wirt fremd sind (137).

Spezifische Immunität ist abhängig vom Vorhandensein von Antikörpern (Ak) oder von Immunzellen. Erstere stellen eine bestimmte Komponente des Proteins im Blut warmblütiger Tiere dar (137).

2.1.2 Die immunkompetente Zelle

Bei der Inkorporation von Antigen in einen immunologisch kompetenten Organismus sind zwei Reaktionen möglich:
1.) die Synthese und das Freigeben von Antikörpern in das Blut und die Gewebeflüssigkeit (humoraler Ak), und

2.) die Produktion von sensibilisierten Lymphozyten (Immunzellen)(276).

Gowans und McGregor (110) zeigten, daß ein Tier, das durch Drainage des Ductus thoracicus an Lymphozyten verarmt ist, eine Schwächung seiner Immunität erfährt.
Konzentrierte Lymphozytensuspension aus dem Ductus thoracicus kann zelluläre und humorale Immunität auf ganzkörperbestrahlte, und somit zu einer Immunantwort unfähige Ratten, übertragen.
Aufgrund dieser Untersuchungen wurde die entscheidende Rolle der Lymphozyten als immunkompetente Zelle erkannt.

Über die Herkunft der Lymphozyten herrscht heute weitgehende Übereinstimmung. Danach werden zwei primäre lymphatische Organe unterschieden:

1. die aus epithelialen Zellen und Lymphozyten bestehende Thymusanlage (T-Zell-System), die aus der Abspaltung der 3. und 4. Pharyngealtasche entsteht, und
2. das Knochenmark (B-Zell-System), das heute beim Säugetier übereinstimmend als Analogon zur Bursa Fabricii des Vogels angesehen wird (268,276,231,249).

Bei Versuchen mit Hühnern und Mäusen konnte gezeigt werden, daß hämatopoetische Stammzellen aus dem embryonalen Dottersack (Vogel) und der Leber (Maus) in die Thymusanlage einwandern und sich unter dem induktiven Einfluß des Thymusepithels zu Thymuslymphozyten (T-Lymphozyten) differenzieren, die, solange sie im Thymus verweilen, Thymozyten genannt werden.
Ein Teil der Thymozyten verläßt den Thymus, und wird über das Blut auf die lymphatischen Organe verteilt. Ihre Anreicherung erfolgt in den parakortikalen oder Marginalzonen der Lymphknoten und in einem Mantel, der die Zentralarterie der Malpighi'schen Follikel der Milz umgibt (137,244).
Von da aus beginnt der Kreislauf über den Ductus thoracicus ins Blut und über postkapillare Venolen in die lymphatischen Gewebe zurück (231).

Bei den Mäusen erfolgt die Migration der Stammzellen ab dem 11. Tag der Fetogenese, und die ersten kleinen Lymphozyten erscheinen zwischen dem 15. und 16. Tag des Fetallebens (247).

Beim Vogel ist die Entwicklung des B-Zell-Systems von der Bursa Fabricii abhängig. Stammzellen, die mit den oben genannten morphologisch identisch sind, wandern um den 12. bis 13. Tag aus dem embryonalen Dottersack in die Bursa und differenzieren sich dort innerhalb 1 bis 2 Tagen zu Lymphozyten (B-Lymphozyten) (247).

Heute wird beim Säuger übereinstimmend angenommen, daß die Lymphozyten zum größten Teil im hämatopoetischen Gewebe selbst produziert werden; das ist beim Embryo die Leber und nach der Geburt das Knochenmark (304). Diese Gewebe halten nicht nur die Stammzellen für die T- und B-Zellpopulationen bereit, sondern hier differenzieren sie sich auch zu Lymphozyten (B-Lymphozyten). Von hier aus werden sie nach ihrer Reifung mit dem Blut in die weiße Milzpulpa transportiert, wo sie sich anreichern (244,231).

Beim bovinen Fetus erfolgt die Entwicklung des lymphatischen Gewebes ab dem 42. Tag mit der Anlage des Thymus, später erscheinen die ersten Blutlymphozyten (45. Tag), die Milz (55. Tag), periphere Lymphknoten (60. Tag) und Mesenteriallymphknoten (100. Tag). Immunglobulin M (IgM)-enthaltende Zellen werden ab dem 59. Tag beobachtet, während Serum-IgM ab dem 130. Tag nachgewiesen werden konnte. IgG-enthaltende Zellen (145. Tag) und antimaternale Erythrozytenantikörper (155. Tag) erscheinen am Anfang der 2. Hälfte der Fetogenese (302).

Die Mechanismen der Antikörperbildung werden heute durch verschiedene Theorien erklärt (89).
T-Lymphozyten entwickeln sich nach einem Kontakt mit einem Immunogen zu Blastzellen, mit relativ gering ausgebildetem endoplasmatischen Retikulum. Sie sezernieren u.a. verschiedene nicht-Ag-spezifische Faktoren (Lymphokine), von denen einige bei der zellvermittelten Immunantwort eine Rolle spielen.
Darunter fallen die Überempfindlichkeit vom verzögerten Typ, Transplantatabstoßung und graft-versus-host Reaktion (268).

Nach dem Kontakt des Immunogens mit dem spezifischen Rezeptor auf der B-Zelle wird diese aktiviert und teilt sich. Sie differen-

ziert sich weiter zu einer Blastzelle und aus dieser entsteht die Plasmazelle. Einige der Tochterzellen entwickeln sich nicht zu Plasmazellen, und man nimmt an, daß sich diese zu einem Reservoir von "Gedächtniszellen" formieren (276).

Plasmazellen synthetisieren die Immunglobuline und geben sie in das Blut und die Körperflüssigkeit ab (44).
Mattioli und Tomasi (203) geben die maximale Lebensdauer von intestinalen Mäuseplasmazellen mit 7-8 Wochen, und die Halbwertszeit mit 4,7 Tagen an.

Die Zeit vom ersten Kontakt mit dem Antigen bis zum Erscheinen erster zirkulierender Antikörper dauert 3-7 Tage (335,10).
Diese Antikörper unterliegen dem normalen Stoffwechsel des Körpers und werden nach einer bestimmten Zeit katabolisiert, bis ihr Spiegel den Nullpunkt erreicht. Kommt nun der Körper ein zweitesmal in Kontakt mit dem Ag, so erfolgt eine viel schnellere Antikörperproduktion. Dies wird als sekundäre Immunantwort oder anamnestische Reaktion bezeichnet. Schon 24 Std. nach einer intravenösen und intranasalen Inokulation von IBR-IPV-Virus in immunisierte Kühe konnte unter den Lymphozyten eine beachtliche Zunahme von Plasmazellen festgestellt werden (158).

2.1.3 Immunologisch wirksame Gammaglobulinfraktionen

Durch die Auftrennung von Plasmaproteinen ergeben sich aufgrund ihrer verschiedenen Beweglichkeit im elektrischen Feld vier Hauptgruppen: Albumin, α-, β- und γ-Globuline (127). Nach der Hyperimmunisierung eines Tieres verändert sich der γ-Globulinanteil. Die Bildung von Antikörpern kann nachgewiesen werden, indem man den vergrößerten γ-Globulinanteil durch spezifische Fällung mit dem Ag gezielt entfernen kann. Dadurch kann gezeigt werden, daß die Ak in der γ-Globulinfraktion zu finden sind. Die Auftrennung der Serumproteine eines Tieres vor und während einer Immunisierung zeigten ebenfalls einen Anstieg der γ-Globulinfraktion als Ergebnis der Antikörperbildung (137).

Die γ-Globulinfraktionen der Serumproteine werden weiterhin in Gruppen aufgeteilt: γA (IgA), γG (IgG), γM (IgM) γD (IgD) und γE (IgE) (264,202). Die weitere Betrachtung konzentriert sich auf die drei erstgenannten.
Diese haben eine gemeinsame Struktur, die aus je zwei großen oder schweren (heavy), und zwei kleineren oder leichten (light) Polypeptidketten bestehen. Untereinander werden die Ketten durch jeweils einfache (l-h), oder eine doppelte (h-h) Disulfidbrücken (-S-S-) zusammengehalten (137,61,60).
Die h-Ketten sind für die einzelnen Immunglobulinklassen charakteristisch, die l-Ketten stellen gemeinsame Strukturelemente der Immunglobuline dar (89).

2.1.3.1 IgG

Bovines IgG hat die Form eines Ypsilon, wobei die oberen beiden Schenkel in der Lage sind, jeweils Antigen zu binden, und ihr gemeinsamer Winkel geringfügig variabel ist (61,226). Sein Anteil am Gesamtimmunglobulin beträgt 70-75 % (231). Bei IgG ist ein IgG1 und IgG2 und ein sekretorisches IgGs unterscheidbar (358,164,44,264,229).
Das sekretorische IgGs scheint mit dem IgG-Hauptanteil im Serum immunologisch identisch zu sein (336), da es dasselbe chromatographische Verhalten zeigt (164).
Das Molekulargewicht (MG) beträgt von IgG1 und IgG2 jeweils ca. 150.000 (164,231) und von IgGs 163.000 (164). Die Sedimentationskonstante ist 7 S. Der Kohlehydratanteil beträgt 1,0-3,1 % (336).
In physiologischem Zustand beinhalten 100 g Serumproteine 8,4 ± 2,43 g IgG (164).
IgG ist in der Lage, Komplement zu binden (137), jedoch beschränkt Porter (264) diese Fähigkeit alleine auf IgG1.

2.1.3.2 IgA

Bovines IgA ist mit dem IgG sehr nahe verwandt. Sein Anteil am Gesamtimmunglobulin

beträgt 10-22 % (231,351). Es hat jedoch einen höheren Kohlehydratgehalt (164) und ein MG von 150.000. Durch die Tendenz seiner 7 S Moleküle, zu aggregieren, kommen teilweise höhere Sedimentationskonstanten zustande.
IgA kann Komplement nicht binden, jedoch läßt sich in Gegenwart von Lysozym eine antibakterielle Aktivität feststellen (137).

2.1.3.2.1 Sekretorisches IgA

In Sekreten wie Nasenschleim, Tränenflüssigkeit, Speichel, Bronchialsekret, Kolostrum, intestinalen Sekreten und Sperma kann ein Immunglobulin enthalten sein, das als "sekretorisches IgA" bezeichnet wird (324,195,264). Es besteht aus 2 IgA-Molekülen mit einem MG von jeweils 170.000, die durch ein "sekretorisches Stück" (231) mit einem MG von 50.000 bis 100.000 (137,234,194) zusammengehalten werden. Es besitzt höhere Ferment- und Säurestabilität als IgA. Sein MG beträgt 300.000 oder mehr und seine Sedimentationskonstante ist 11 S (243,194).
Das sekretorische Zwischenstück wird in den Epithelzellen der Schleimhäute, der IgA-Anteil von Plasmazellen in der Submukosa gebildet (336,266,194,44).
Eine laktierende Kuh sezerniert ca. 1,2 g sekretorisches IgA pro Tag (195).
Durch den Ort der Synthese wird das sekretorische IgA auch Muko- oder Koproantikörper genannt (16).
Bei den Tieren, die ihre passive Immunität über das Kolostrum erhalten, wird sekretorisches IgA vermindert resorbiert und kann somit wegen der längeren Verweildauer im Magen-Darm-Kanal eine erhöhte Schutzfunktion ausüben (335).

2.1.3.3 IgM

IgM besitzt 10 h- und 10 l-Ketten, die untereinander wie beim IgG-Molekül durch Disulfidbrücken verknüpft sind. Weitere Disulfidbrücken verbinden die Fc-Anteile (fragment crystallizable) kreis-

förmig, sodaß die Fab-Bezirke (fragment antigen binding) radial herausragen (137,226). Das MG beträgt 900.000 und die Sedimentationskonstante ist 19 S. Sein Anteil am Gesamtimmunglobulin beträgt 7-10 %.

Bei der Inokulation von starken Immunogenen zeigt sich, daß das IgM als erstes Immunglobulin im Serum erscheint, nach Überschreiten seines maximalen Spiegels schnell wieder abgebaut wird und verschwindet (191,144,337). Es wird deshalb als "frühes Immunglobulin" bezeichnet (43).
Aufgrund der Größe und Struktur von IgM ist es mit Hilfe von Komplement hauptsächlich bei der Agglutination und Lysis (231) beteiligt und gegen große Antigenpartikel gerichtet.

2.1.4 Die Beziehung zwischen Antigenmenge und Antikörperproduktion

2.1.4.1 Primär- und Sekundärantwort

Die immunologische Reaktion eines Tieres ist abhängig von der Menge, der Eigenschaft und der Art der Inokulation des Antigens. Bei erstmaliger Verabreichung kleiner Mengen eines Antigens wird die Produktion weniger antikörperbildender Zellen stimuliert. Die Produktion von 19 S-Ak (IgM) steht im Vordergrund, die von 7 S ist unbedeutend. Es kommt außerdem zur Bildung von "Gedächtniszellen" (137). Bei der Immunisierung von Schweinen gegen Schaferythrozyten konnten nach einmaliger Injektion des Antigens nur 19 S-hämolysierende Zellen nachgewiesen werden (42).
Wird dem Tier nach einer bestimmten Zeit zum zweitenmal dasselbe Antigen inokuliert, kommt es zu einem Booster-Effekt, d.h. es werden große Mengen von 7 S-Antikörpern produziert, die lange im Körper verweilen.
Bei hohen erstmaligen Antigendosen treten zwar viele antikörperproduzierende Zellen auf, und es kommt zu vorübergehender Produktion von 19 S- und 7 S-Antikörpern, jedoch bleibt bei einer Zweitinokulation ein Booster-Effekt aus, und die gebildeten Antikörper verschwinden relativ rasch wieder. Dies ist einerseits auf die

fehlende Produktion von Gedächtniszellen zurückzuführen, andererseits als Phänomen der Immunparalyse bekannt (83).

2.1.4.2 Affinität zwischen Antikörper und Antigen

Der Immunschutz eines Tieres steht in enger Beziehung zur Menge der gebildeten 7 S-Ak (365) und der Beziehung zwischen 7 S-Ak und Antikörpern mit einer bestimmten Affinität zum Antigen (316). Die Art der Immunantwort und die Höhe des Ak-Titers werden durch das Ag und seine Dosierung bestimmt (337).
Bei der Verabreichung einer kleinen Antigendosis ist die gebildete Menge der Antikörper ebenfalls klein, die durchschnittliche Affinität zum Antigen jedoch hoch.
Bei hoher Antigendosis ist die produzierte Ak-Menge groß, die Affinität jedoch niedrig. Bei wiederholter Inokulation von Ag in Zeitabständen, in denen vor dem erneuten Kontakt mit dem Ag der Antikörperspiegel abfällt, steigt die Affinität der gebildeten Antikörper nach jeder Dosis an (137).
Bezüglich der Affinität zum Ag zeigt die Ak-Population im Serum eines Individuums, die gegen ein Hapten gebildet wurde, eine Normalverteilung (42).

2.1.5 Pränatale Immunität

Der bovine Fetus ist bereits vor der Geburt in der Lage, auf verschiedene Antigene immunologisch zu reagieren (245,335). Miller (228) setzte für eine fetale Immunantwort das Zirkulieren kleiner Lymphozyten, die am 60. Tag der Fetogenese peripher erscheinen, voraus.
Einer der ersten Hinweise auf die Immunantwort ungeborener Kälber war ein Versuch von Fennestad und Borg-Petersen (82).
Sie infizierten die Plazentome zweier Kühe, denen zuvor Immunserum verabreicht worden war, am 214. und 223. Tag der Trächtigkeit mit einer Leptospira saxkoebing-Suspension.

Die normal geborenen Kälber hatten vor der Aufnahme von Kolostrum Serumantikörper gegen das Inokulum.
Bei Infektionen von Feten mit inaktiviertem IBR-IPV-Virus (159), vermehrungsfähigem IBR-IPV-Virus (100), Parainfluenza-3-Virus (340) und mit dem Virus der Bovinen Virusdiarrhoe-Mucosal Disease (49, 156,100,39,136) konnte ebenfalls eine Immunantwort des Fetus nachgewiesen werden.
Kniazeff und Riemer (173) untersuchten 40 fetale Seren und fanden bei 7 (17,5 %) signifikante Mengen von γ-Globulin. Zwei von diesen 7 Seren neutralisierten BVD-MD- und IBR-IPV-Virus. Die Seren von 7 Holstein-Friesen-Kälbern zeigten vor Kolostrumaufnahme erhöhte IgM-, IgG1- und IgG2-Gehalte, wonach Merryman (224) auf unabhängige fetale Immunantwort schloß.
Ward et al. (361) und Klassik und Fernelius (56) wiesen auf die Möglichkeit der transplazentaren Infektion hin, als sie empfängliche Kühe ab dem 5. Monat der Trächtigkeit mit BVD-MD-Virus infizierten. Alle Kälber besaßen bei der Geburt (361), oder 32 Tage nach der Infektion durch Kaiserschnitt entbunden (56), Antikörper gegen das Virus. Im Serumneutralisationstest gegen verschiedene Stämme wurden Titer gefunden, die bei der Kuh zwischen 1:128 und 1:4 096, und beim Kalb zwischen 1:64 und 1:4 096 lagen.

2.1.6 Postnatale Immunität

Das Kalb wird, wenn es vor der Geburt keinem Antigenkontakt ausgesetzt war, ohne nennenswerte Mengen von Immunglobulin geboren (322, 160,339,264,171).
Ein transplazentarer Übertritt von Ak von einer Kuh auf das Kalb ist bei intakten Chorion- und Uterusepithelien der Plazenta epitheliochorialis einerseits, und der Größe der Ak-Moleküle andererseits nicht möglich.

Den ersten spezifischen Schutz erhält das Kalb über das Kolostrum (160,122,162,225). Kurz vor der Geburt kommt es bei der Kuh zu einem Abfall der Serumglobuline, besonders der IgG, und zu einer entsprechenden bis zu 13fachen (208) Anreicherung im Kolostrum

(78,209). Der relative Gehalt an IgG steigt auf 70-80 % an (138). Die Frage ist jedoch noch nicht eindeutig geklärt, ob es sich dabei um einen selektiven Transport über das azinäre Epithel der Milchdrüse (336,78,264,43) oder um lokale Synthese handelt (48).

Bei kolostrumgefütterten Kälbern ist der Zuwachs der Serumimmunglobulinkonzentration von der Menge der mit dem Kolostrum aufgenommenen Immunglobuline, dem Zeitpunkt der Aufnahme und dem Resorptionsvermögen des Kalbes abhängig (321,176,318).

Die höchste Konzentration an IgM und IgG erreicht das Kalb 24 Std. nach der Geburt (321,208,209,329). Sie beträgt 49 % der IgM- und 60 % der IgG-Konzentration im Kolostrum. Dabei werden beide Immunglobuline in gleichem Maße resorbiert (171). Ab 27 Std. post partum können Kälber nur noch geringe Mengen (122) oder keine (322,209) Immunglobuline mehr resorbieren.

Nach der Verfütterung von Kolostrumgemelk innerhalb der ersten 25 Std. fand Steck (322) einen Anstieg der IgG-Konzentration auf das 250- bis 500fache der Ausgangswerte und weist auf die Möglichkeit der selektiven Resorption hin. Dies wurde von Porter (264) in Frage gestellt, obwohl die untersuchten postkolostralen Serumimmunglobuline beim Kalb den Kolostrumimmunglobulinen sehr ähnlich waren.
Die mittels Kolostrum auf das Kalb übertragenen Immunglobuline haben eine Halbwertszeit von 10 bis 20 Tagen (324) und schützen das Kalb in der 1. Infektionsperiode (210) (Passive Immunität).

2.1.6.1 Passive Immunität und Vakzinierung

Die über das Kolostrum auf das Kalb übertragenen Immunglobuline schützen das Kalb in der Periode der passiven Immunität vor Infektionen (210), sie beeinträchtigen bzw. verhindern jedoch auch die Entwicklung einer aktiven Immunität nach parenteraler Inokulation von Impfstoffen (303,135,35,354,29,76).
Die immunsuppressive Wirkung passiv übertragener Antikörper (303) wird durch Adsorption des Impfantigens an vorhandene Antikörper

erklärt (325). Dadurch wird z.B. Virus gehindert, in die Wirtszelle einzudringen (117).
Bei der Inokulation von Nicht-Virus-Antigenen konnten Smith und Ingram (317) zeigen, daß kolostrumfrei aufgezogene - (Gruppe 1) und Kolostrum-gefütterte Kälber (Gruppe 2) in verschiedenem Alter zeitlich zwar unterschiedlich, immunologisch jedoch ähnlich reagierten. Sie injizierten, durch Formalin abgetötete Salmonella pullorum Keime, entsprechend behandelte Kapselpolysaccharide von Klebsiella pneumoniae und humanes Serumalbumin mit inkomplettem Freund'schem Adjuvans, und fanden quantitativ nur geringe Unterschiede in der Immunantwort. Die Ergebnisse dieses Versuchs waren jedoch durch die geringe Zahl der Versuchstiere nicht sehr aussagekräftig.
Bei der Vakzinierung junger Kälber kann das Problem der Unterdrükkung einer Ak-Bildung beim Vorhandensein maternaler Ak durch Änderung der Impftechnik umgangen werden (267).
Bögel und Liebelt (30) stellten fest, daß ein passiver humoraler Immunschutz den Ablauf einer Impfvirusinfektion in den Schleimhäuten wenig beeinflußt. Über 70 % der "passiv geschützten" Kälber mit positiven HAH-Titern schieden nach einer intranasalen (i.n.) Impfung mit attenuiertem PI-3-Virus das Impfvirus mit dem Nasenschleim aus, während bei 50 "aktiv geschützten" Kälbern mit gleich hohen Ak-Titern kein Virus im Nasensekret nachgewiesen werden konnte.
Bei Impfversuchen mit einem PI-3 Lebendimpfstoff konnten Bögel und Liebelt (29) und Pette et al. (257) nachweisen, daß eine intranasale Impfung zum gleichen Ergebnis führte, wie eine kombinierte intramuskuläre und intranasale, bzw. eine kombinierte Impfung einer einfachen intramuskulären überlegen war.
Bei Virusinfektionen der Schleimhäute haben humorale Antikörper eine untergeordnete Bedeutung (29).
Die intranasale Impfung von Lebendimpfstoff erscheint als Methode der Wahl, da durch die lokale Anwendung von Impfvirus am Ort der natürlichen Infektion das, -vom humoralen unabhängige-, sekretorische Immunsystem stimuliert wird (348,347,221,350,29), und es zur Ausbildung einer lokalen Schleimhautimmunität kommt.

Diese Ansicht wird unterstützt durch Ergebnisse bei intranasalen Impfungen mit Lebendimpfstoff gegen Parainfluenza-3- und IBR-IPV-Virusinfektionen (32,257,116,99,235,26,167,221,54,348,349).

2.1.6.2 Passive Immunität und Infektionskrankheiten

Es kommt vor, daß Kälber entweder kein Kolostrum aufnehmen oder aufgenommene Immunglobuline nicht resorbieren können (176,286, 171). Derartige hypo- bis agammaglobulinämische Tiere sind für Infektionskrankheiten besonders anfällig.
Bei einer Untersuchung von 227 Kälberseren zeigte Boyd (34) die Beziehung zwischen Immunglobulinmangel und Erkrankungsrate.
Die Ig-Konzentrationen der Seren wurden mittels Zinksulfattrübungsverfahren (ZST) ermittelt.
Tiere mit unterdurchschnittlichem Ig-Spiegel, d.h. unter 20 ZST-Einheiten waren zu 21,9 % an Kälberruhr und zu 11,4 % an anderen Krankheiten erkrankt.
Diese Zahlen sanken bei Tieren mit überdurchschnittlichen Serum-Ig-Konzentrationen auf 5,3 % bzw. 3,5 % ab.
Um 95 % der Kälber vor tödlichen Infektionskrankheiten zu schützen, war ein Serum-Ig-Spiegel von 30 ZST-Einheiten notwendig.
Diese Ergebnisse stimmen überein mit den Untersuchungen von Penhale et al. (255), der die IgG- und IgM-Serumgehalte von Marktkälbern in Großbritannien untersuchte. Bei Folgeuntersuchungen zeigte sich, daß Kälber, die an E.coli-Septikämie starben, vorher IgG- und IgM-Konzentrationen von 0,8 mg/ml bzw. 0,2 mg/ml hatten. Die IgG- und IgM-Konzentrationen bei den überlebenden Kälbern betrugen zuvor 7,5 mg/ml bzw. 0,8 mg/ml.
Reusch (271) untersuchte die Seren von 48 Kälbern und konnte noch 2 Tage nach Kolostrumaufnahme in 5 Seren kein IgG nachweisen. 4 Tiere davon erkrankten an Durchfall und eines starb an Enteritis. 8 Kälber zeigten nach Kolostrumaufnahme einen um 8 % (rel.) geringeren Serumglobulingehalt. Davon erkrankten 7 an schwerem Durchfall und 2 starben. Die restlichen 35 Kälber hatten einen überdurchschnittlichen Serum-IgG-Gehalt von 15,1 % (rel.), gemessen

24-48 Std. post partum. Davon blieben 9 Tiere gesund, 26 erkrankten an Durchfall und 2 starben.
Roberts et al. (273) verglichen 24 kolostrumfrei aufgezogene Kälber mit solchen, die Kolostrum ad libitum aufnahmen. Von der 1. Gruppe starben 5 in den ersten Lebenstagen unter dem klinischen Bild eines starken wäßrigen Durchfalls. Die überlebenden Kälber, die die gleichen Krankheitssymptome zeigten, erholten sich langsam, nachdem der Durchfall entweder graduell oder spontan aufhörte. Später erkrankten 7 weitere fieberhaft an Arthritis.
Die zweite Gruppe, die Kolostrum ad libitum aufnahm, zeigte während der Beobachtungszeit keinerlei klinischen Anzeichen einer Erkrankung.

Auch eine voll wirksame passive Immunität geht mit zunehmendem Alter stetig zurück. Ihre Dauer ist individuell verschieden und abhängig von Art und Menge der resorbierten Kolostralantikörper. Nach dem Abbau des maternalen Immunschutzes ist das Jungtier immunologisch schutzlos und voll empfänglich für Infektionserreger (333). Dabei lassen sich epidemiologisch und pathogenetisch zwei Gruppen von Erregern unterscheiden:

1. Erreger von spezifischen Seuchen und
2. Erreger von Faktorenerkrankungen.

Die spezifischen Seuchen haben bei uns mit der Anwendung geeigneter veterinärpolizeilicher und immunprophylaktischer Maßnahmen an Bedeutung verloren.
Dafür spielen, -wesentlich bedingt durch neue Tierhaltungsformen-, die sogenannten infektiösen Faktorenerkrankungen eine immer größere Rolle.

In der modernen Rinderhaltung ist die sogenannte Rindergrippe die wirtschaftlich bedeutsamste infektiöse Faktorenerkrankung.

2.2 RINDERGRIPPE

2.2.1 Begriffsbestimmung der Rindergrippe

Als Rindergrippe wird eine akute, ansteckende, fieberhafte Erkrankung des Rindes bezeichnet, die hauptsächlich Jungtiere im Alter von 3-18 Monaten befällt, vorwiegend in den Wintermonaten (Oktober bis März) auftritt und an deren Zustandekommen verschiedene Virusarten maßgeblich beteiligt sind (371). Das klinische Bild wird bestimmt durch Fieber, Nasen- und Augenausfluß und Husten. Bei schwereren Fällen werden Konjunktivitis, Durchfall und Pneumonie beobachtet.

Diese Erkrankung ist auch unter der Bezeichnung "Enzootische Bronchopneumonie", "Infektiöse Bronchopneumonie", "Infektiöse Bronchitis", "Viruspneumonie" und "Rinderinfluenza" bekannt geworden (371,258,77).

Ähnliche Krankheitsbilder werden im englischen Sprachraum als "shipping fever" (SF) und "bovine respiratory disease" (BRD) beschrieben (121,248).

2.2.2 Ätiologie der Rindergrippe

Bei der Rindergrippe handelt es sich um eine infektiöse Faktorenerkrankung, für deren Ätiologie hauptsächlich Viren, für den Übergang der Infektion in eine Krankheit jedoch nicht mikrobielle Faktoren ("Streßfaktoren") verantwortlich sind. Kompliziert wird die Erkrankung durch Mischinfektionen (371).

2.2.2.1 Infektionserreger

Untersuchungen im süddeutschen Raum zeigten, daß von den bei Rindergrippeerkrankungen mitbeteiligten Virusarten den bovinen Adenoviren und Reoviren besondere Bedeutung zukommt. Die Beteiligung von bovinen Adenoviren der Serotypen 2, 3, 4, 5 und 8, sowie

des Reovirusserotyps 1 wurde nachgewiesen. Außerdem kam eine Mischinfektion von bovinem Adenovirus Serotyp 4 und Rhinovirus vor.
Verdachtsdiagnosen, erstellt auf der Basis des Antikörperspektrums von Tieren in solchen Beständen, welche von der Rindergrippe betroffen waren, deuteten ebenfalls auf bovine Adenoviren als hauptsächliche Rindergrippe-Erreger hin. Dabei wird die Möglichkeit eingeräumt, daß sich unter veränderten epidemiographischen Verhältnissen hinsichtlich der Bedeutung für die Rindergrippe das Schwergewicht auf andere Virusarten und -Serotypen (z.B. PI-3-Virus) verlagern kann (371).
Infektionen mit den genannten Virusarten verlaufen bei gesunden und unter guten Bedingungen gehaltenen Rindern entweder klinisch inapparent oder mit nur schwach ausgeprägten klinischen Symptomen; jedoch sind oft Schädigungen des Organismus, insbesonders des Respirations- und Verdauungstrakts histologisch nachweisbar (128, 75,139,72,67,352,278,184,25).
Als Erreger von Mischinfektionen und Sekundärinfektionen werden genannt: vor allem Pasteurella haemolytica und P. multocida, außerdem Corynebakterien, Streptokokken, Haemophilus species, Pseudomonas, Mycoplasmen und Bedsonien (27,126,323,181,132,113,94).

2.2.2.2 Streßfaktoren

Für den Ausbruch von Rindergrippe - Erkrankungen werden resistenzmindernde Faktoren verantwortlich gemacht (371,368).
Das gehäufte Auftreten der Rindergrippe in den Herbst- und Wintermonaten läßt den Schluß zu, daß witterungsbedingte Einflüsse die häufigsten auslösenden Faktoren darstellen. In Frage kommt hier vor allem eine Erkältung.
Weitere Streßfaktoren können zum Beispiel sein:
- ungünstige Haltungsformen,
- Futterumstellung,
- Mangelernährung,
- Vitamin A-Mangel,
- Kontamination der Futtermittel.

2.2.3 Wirtschaftliche Aspekte

Die durch die Rindergrippe hervorgerufenen wirtschaftlichen Verluste sind bedingt durch Abmagerung, Leistungsminderung, Therapiekosten und Tod der Tiere.
Für die Mortalität wird eine Quote von durchschnittlich 5,5 % angegeben (374). Die von der bayerischen Tierseuchenkasse (TSK) in den Jahren 1972 bis 1974 stichprobenartig ermittelte Letalitätsquote betrug 10,6 bis 14,1 %.

Genauere Angaben über die durch die Rindergrippe bedingten wirtschaftlichen Verluste in der BRD liegen für das Land Bayern vor+).
Die bayerische TSK leistet für Rinderverluste durch Rindergrippe eine Beihilfe, wenn folgende Voraussetzungen erfüllt sind:

1. Seuchenhaftes Auftreten der Krankheit (Erkrankung mehrerer Rinder in einem Bestand).
2. Rechtzeitige tierärztliche Behandlung und Einleitung diagnostischer Maßnahmen.
3. Vorliegen eines Untersuchungsbefundes eines Landesuntersuchungsamtes für das Gesundheitswesen, Fachbereich Veterinärmedizin. (Untersucht werden Organproben, ergänzende serologische Untersuchungen können gefordert werden).

Die Beihilfe wird innerhalb von 2 Jahren höchstens für 10 % der Rinder eines Bestandes gewährt, die jeweils am Tag der allgemeinen Viehzählung als beitragspflichtig gemeldet worden waren.
Die Beihilfe beträgt 40 % des reinen Schadens, wobei der Höchstwert pro Tier mit maximal DM 3 000,- angesetzt wird.

Im Jahr 1972 (201) betrug die Gesamtsumme der von der bayer. TSK ausgezahlten Beihilfen für Rinderverluste durch Rindergrippe ca. DM 530 000,- .
Im Jahr 1973 wurden entsprechend 2 248 Anträgen für 2 494 Krank-, Notschlachtungen und verendete Tiere Beihilfen in Höhe von insgesamt DM 993 281,- gewährt. Dies entspricht einer durchschnittlichen Beihilfe von DM 398,30 pro verlorenes Tier.

+) Der bayerischen Tierseuchenkasse danke ich für die Überlassung der Unterlagen.

Im Jahr 1974 betrugen die gewährten Beihilfen bereits bis zum 20. August DM 959 532,- . Damit dürfte in diesem Jahr die Millionengrenze überschritten werden.

Aus diesen Zahlen wird deutlich, daß der durch die Rindergrippe verursachte wirtschaftliche Schaden von Jahr zu Jahr größer wird. Zieht man in Betracht, daß durch die Beihilfen der bayerischen TSK im Höchstfall 40 % der durch Totalverluste verursachten Einbußen abgedeckt werden, so erleidet derzeit die Landwirtschaft in Bayern allein durch die Totalverluste infolge der Rindergrippe einen jährlichen Schaden von ca. 2,5 Millionen DM.
Berücksichtigt man ferner die schlecht kalkulierbaren Faktoren wie
- Mehrkosten für Futter und Haltung,
- Gewichtsverluste und Leistungsminderung bei erkrankten Tieren, sowie
- Behandlungskosten,

so beträgt der tatsächliche wirtschaftliche Schaden ein Vielfaches der von der bayerischen TSK erstatteten Beträge.

2.2.4 Prophylaxe der Rindergrippe

Eine sinnvolle Prophylaxe der Rindergrippe muß der komplexen Ätiologie dieser Krankheit Rechnung tragen. Nur die optimale Kombination geeigneter Maßnahmen läßt bei der Prophylaxe der Rindergrippe auch einen durchgreifenden Erfolg erwarten (214).
Solche Maßnahmen müssen umfassen:
1. die Einschränkung bzw. Beseitigung von Infektionsquellen,
2. die Beseitigung von Faktoren, welche die Resistenz der gefährdeten Tiere beeinträchtigen können, und
3. eine gezielte Immunprophylaxe.

2.2.4.1 Immunprophylaxe gegen die Rindergrippe

In der BRD stehen zur Zeit folgende Impfstoffe zur Immunprophylaxe der Rindergrippe zur Verfügung:

1. Ein Impfstoff gegen die Parainfluenza-3-Infektion des Rindes (Merieux-Rentschler GmbH),
2. Eine Polyvalente Virus-Pneumonie-Vakzine (Hydrochemie GmbH) und
3. Ein Kombinationsimpfstoff gegen die Rindergrippe (Versuchsimpfstoff) (372).
   Dieser Impfstoff wird zur Zeit unter Praxisbedingungen erprobt.

2.3 VIRUSINFEKTIONEN BEIM RIND UND IHRE BEKÄMPFUNG DURCH IMMUNPROPHYLAXE

2.3.1 Parainfluenza-3-Virus

Parainfluenza-3-Virusinfektionen werden bei unseren Rindern häufig beobachtet (236). Dem Erreger kommt als Glied in der Ursachenkette respiratorischer Erkrankungen Bedeutung zu (40).
Daneben wird das Parainfluenza-3-Virus auch als Abort verursachendes Agens beschrieben (79,295,97).
Die klinischen Anzeichen einer Erkrankung sind meist leichtes Fieber, Nasenausfluß, Husten und Tränenfluß.

2.3.1.1 Antikörper und Immunität

Eine Infektion mit dem Parainfluenza-3 (PI-3)-Virus führt beim Rind zur Bildung virusspezifischer Antikörper und somit zu einer nachweisbaren Immunität. Man unterscheidet:
- humorale Antikörper und
- sekretorische Antikörper.

Nach der Art ihrer Wirkung werden diese in:
- neutralisierende Antikörper (N-Ak),
- hämagglutinationshemmende Antikörper (HAH-Ak) und
- komplementbindende Antikörper (Kb-Ak) unterteilt.

2.3.1.1.1 Neutralisierende Antikörper (N-Ak)

Virusneutralisierende Antikörper stellen den wichtigsten Immunschutz dar und können nach experimenteller und nach natürlicher Infektion im Serum und Nasensekret nachgewiesen werden (200).
Die Höhe des Ak-Titers ist abhängig von der Infektionsart und der -dosis (10,200).
Nach einer Infektion erscheinen die N-Ak bereits ab dem 7. Tag

im Serum und erreichen in der Regel nach der 3. Woche die höchste Konzentration. 3-5 Monate nach der Infektion fallen die Titer nach Überschreiten des maximalen Spiegels, der zwischen 1:128 und 1:512 liegt, wieder ab (10,75,128,1,45).
Matsuoka (205) stellte fest, daß Kälber mit N-Ak gegen eine Testinfektion geschützt waren.
Die von Morein (234) als IgA charakterisierten sekretorischen Ak werden lokal in der Mukosa der Schleimhäute gebildet und mit dem Nasensekret ausgeschieden (266,234,88,222,200).
Ihnen werden von Frank und Marshall (88) eine größere Schutzfunktion zugeschrieben als den Serum-N-Ak, obwohl letztere den Grad der Erkrankung entscheidend verringern.
Gates et al. (99) zeigten nach intranasaler Impfung mit attenuiertem PI-3-Virus, daß die Tiere, aufgrund der lokalen N-Ak-Bildung in der Schleimhaut, nach einer anschließenden Testinfektion nur einen Tag lang bzw. gar kein Virus mit dem Nasensekret ausschieden. Die i.m. vakzinierten Tiere, die hohe Serum-N-Ak bildeten, schieden dagegen über 6 Tage lang Virus aus.
Serumtiter neutralisierender Ak von 1:8 und größer deuten bei adulten Tieren auf einen früheren Kontakt mit dem Virus hin (10, 24,23).
Bei der Beurteilung des Immunstatus eines Tieres gegenüber einer PI-3-Infektion halten Peacock (251) und Rossi et al. (287) den Nachweis neutralisierender Antikörper im Serum für einen besseren Indikator als den HAH-Ak.

2.3.1.1.2 Hämagglutinationshemmende Antikörper (HAH-Ak)

Der Nachweis HAH-Ak gilt heute als Methode der Wahl bei der Untersuchung des humoralen Immunstatus eines Tieres gegenüber einer PI-3-Infektion, obwohl sie als Infektionsschutz eine untergeordnete Bedeutung besitzen (17,379,215,123).
HAH-Ak sind bereits im akuten Krankheitszustand bzw. innerhalb der ersten Woche nach der Infektion im Serum nachweisbar und erreichen in der 2. bis 3. Woche ihr Maximum, das bei älteren Tieren Werte bis zu 1:10 000, bei vakzinierten Tieren bis zu

1:40 960 erreicht (379,126,118,1,365,346,119).
Danach sind die Ak mehrere Monate im Serum nachweisbar und stimmen in der Titerhöhe und der Kinetik mit den N-Ak überein, oder zeigen nur geringfügige Abweichungen (10,1,235).
Bei experimentellen Schleimhautinfektionen waren einige Tiere selbst beim Vorhandensein hoher HAH-Ak-Titer vor der lokalen Infektion nicht geschützt (379).
HAH-Ak können auch dann noch in Seren festgestellt werden, in denen Kb- oder N-Ak nicht mehr nachweisbar sind (123).

2.3.1.1.3 Komplementbindende Antikörper (Kb-Ak)

Kb-Ak erscheinen im Blutserum nach einer Infektion innerhalb einer bis zwei Wochen, sind jedoch 2-3 Monate später nicht mehr vorhanden.
Nach experimenteller Infektion sind Kb-Ak nicht immer nachweisbar, (1), vielmehr stellte Riedel (272) fest, daß nur solche Rinder Kb-Ak produzierten,

- bei denen klinische Anzeichen einer respiratorischen Erkrankung vorlagen,
- die laut Vorbericht vor längstens 8 Wochen erkrankt waren, und
- die bereits hohe HAH-Ak besaßen.

Aus diesen Gründen, und wegen des raschen Abbaus der Kb-Ak eignet sich die KBR (Komplementbindungsreaktion) nicht zur Beurteilung des Immunstatus von Einzeltieren, wenn die Infektion schon länger als 2 Monate zurückliegt, vielmehr wird sie in Verbindung mit dem Nachweis von HAH-Ak oder N-Ak für Bestandsuntersuchungen in der Rekonvaleszenzzeit empfohlen (123,272,128,1).

2.3.1.1.4 Kolostralimmunität

Bei der sich wiederholenden Durchseuchung von Rinderbeständen erlangen ältere Tiere in der Regel eine aktive Immunität gegenüber PI-3-Virus, und mit der Aufnahme von Kolostrum erhält das Saugkalb somit auch spezifische Antikörper. Diese erscheinen darauf-

hin schon innerhalb 24 Std. nach der Geburt(321,29,339).
Die Konzentration und die Persistenz dieser maternalen Ak im Kalb sind abhängig:

- von der im Kolostrum enthaltenen Ak-Menge,
- von dem innerhalb 24 Std. nach der Geburt aufgenommenen Volumen an Kolostrum, und
- vom Resorptionsvermögen des Kalbes (176).

Nach dem gleichmäßigen Abbau dieser passiv erworbenen Ak sind in der Regel nach 8 Wochen keine Kolostralantikörpermehr nachweisbar, jedoch fand Dawson (76) in Kälberseren noch nach 300 Tagen post partum Spuren von HAH-Ak (29,76).

Kolostralantikörper sind in der Lage, vor einer schweren Krankheit zu schützen, jedoch laufen Infektionen in der Schleimhaut gewöhnlich unbeeinflußt ab, bzw. werden nur durch hohe Ak-Titer abgeschwächt. Wegen der normalerweise geringen Ausprägung klinischer Anzeichen einer solchen Schleimhautinfektion ist die Beurteilung, ob das Haften einer Infektion (Impfinfektion) beim Vorhandensein einer Kolostralimmunität verhindert wurde, schwierig (29,30,75).
Bei der Vakzinierung von Kälbern gegen eine PI-3-Infektion beeinflussen maternale Ak die Bildung einer aktiven Immunität (107, 213,257).
Dieser, die spezifische Ak-Bildung unterdrückende Vorgang, kann jedoch durch die intranasale Impfung mit Impfstoffen aus vermehrungsfähigen Erregern teilweise umgangen werden (29,32,).

2.3.1.2 Impfstoffe gegen die PI-3-Infektion

Eine gezielte Bekämpfung der PI-3-Infektion ist nur durch eine prophylaktische Impfung möglich. Therapeutische Maßnahmen mit Rekonvaleszentenserum mildern zwar den Krankheitsverlauf, stellen jedoch keine Alternative zur aktiven Immunisierung dar, da keine langdauernde Immunität erzielt werden kann (300).
Seit 1961 sind deshalb 2 Arten von Impfstoffen beschrieben worden:

- Impfstoffe aus inaktiviertem PI-3-Virus, und

- Impfstoffe aus attenuiertem, oder heterologem vermehrungsfähigem PI-3-Virus.

Beide Impfstoffarten sind als monospezifische Vakzinen und auch in Form von Kombinationsimpfstoffen in umfangreichen Versuchen angewandt worden.

2.3.1.2.1 Impfstoffe aus inaktivierten Erregern

Impfstoffe aus inaktiviertem PI-3-Virus sind zuerst 1961 in den USA beschrieben, und ihre Wirksamkeit und Unschädlichkeit untersucht worden. Dabei kamen sowohl monospezifische Vakzinen, als auch Kombinationsvakzinen, in denen inaktiviertes PI-3-Virus als Komponente enthalten war, zum Einsatz (234,88,282,118,95,57, 311,320,205,174,354,293,259,175,119,120,73,167,377,376,379,375, 309,310,378,232,235,123,109,45,106,294,170,215).

2.3.1.2.1.1 Virusstämme für die Impfstoffherstellung

Als Grundlage für die Herstellung von Impfstoffen aus inaktivierten Erregern wurden vom Rind isolierte PI-3-Virusstämme verwendet, am häufigsten der Referenzstamm SF 4 (270).
Die Vermehrung erfolgte in der Regel in primären oder sekundären ENK-Zellkulturen, jedoch kamen auch Schweinenierenkulturen zur Anwendung (378).
Der von Tribe et al. (353) verwendete Stamm "Frant" wurde aus einem Kalb, das an Pneumonie erkrankt war, isoliert.
Morein (234) benutzte den PI-3 Stamm "Umea 23 B", und Byrne et al. (45) verglichen die Immunogenität des Referenzstammes "SF 4" mit dem humanen Prototyp "HA 1".

2.3.1.2.1.2 Inaktivierung von PI-3-Virus

Hauptkriterium bei der Herstellung von Impfstoffen aus inaktiviertem Virus ist die Zerstörung der Infektionstüchtigkeit des Virus unter Beibehaltung der immunisierenden Eigenschaften.

Eine ideale Vakzine bestände demnach aus konzentriertem, gereinigtem Virushüllantigen, ohne Virusnukleinsäure und Medium-Eiweiß (291).

Die Wahl des Inaktivierungsmittels wird in erster Linie von der Reaktionsschwelle zwischen der Zerstörung der Infektionsfähigkeit und der völligen Denaturierung des Virusantigens bestimmt (291).

Bei der Inaktivierung von PI-3-Virus wurden Formalin (0,0001 % - 0,5 %) (357,167), β-Propiolakton (BPL) (190,310,353,320,311), Tetrachloräthylen (PCE) und Perchloräthylen (PCE, 30 %ig) (354, 353) angewandt, wobei sich das Formalin als Mittel der Wahl erwies.

Die Wirkung von Formalin, BPL und PCE beruht auf der Veränderung der Virusnukleinsäuren und -proteinen (357).
Formalin reagiert mit Lipidkonstituenten, BPL mit Hydroxyl-, Amino-, Carboxyl-, Sulfhydryl- und Phenolgruppen der Virus-Proteinkomponenten (190,108)

2.3.1.2.1.3 Adjuvantien

Die immunogene Wirkung inaktivierter Virussuspensionen kann durch Zugabe von Adjuvantien beträchtlich gesteigert werden.
Freund (91) faßte die Wirkung von Adjuvantien in 3 Punkten zusammen:

- Aufbereitung des Antigens in eine Depotform, von wo es graduell und gleichmäßig abgegeben wird,
- Transportfunktion für das emulgierte Ag in weitere, zur Ak-Produktion fähige Organe, wie Lymphknoten und Milz, und
- Stimulation von Zellneubildungen der mononukleären Reihe.

Freund's Adjuvans (abgetötete Mykobakterien in Wasser suspendiert, und durch Emulgatoren wie Arlacel A (Mannitmonooleat) in einer Wasser-in-Öl Suspension emulgiert) war in inkompletter Form (ohne Mykobakterien) ein wichtiger Bestandteil in Influenza-Adenovirus- und Poliomyelitits-Vakzinen (Lit. bei 130).
Ein von Hilleman (130) zusammengestelltes Adjuvans, bestehend aus Erdnußöl, Arlacel A und Aluminiummonostearat als Stabilisator (Adjuvans 65), wurde sowohl Influenza- als auch Parainfluenza-Humanimpfstoffen zugegeben.

Bei Impfstoffen gegen die PI-3-Infektion des Rindes wurden sowohl inkomplettes Freund'sches Adjuvans als auch Aluminiumverbindungen verwendet. Die ölige Phase bestand in der Regel aus Mineralöl (Bayol, Markol), das mit lipophilen oder hydrophilen Emulgatoren (Arlacel A, Tween 80, Falba) versetzt wurde (310,106,378,118,119,123,215,95,120,354).
Derartige Emulgatoren erhöhen zwar die Stabilität der Emulsionen und setzen auch die Viskosität herab, jedoch wird die ölige Phase bei i.p. Verimpfung für toxische Reaktionen, bei s.c. Verimpfung für Ödeme und Indurationen, und bei i.m. Verimpfung für Muskelfibrosen an der Impfstelle verantwortlich gemacht (354).

Von den Aluminiumverbindungen hat sich das Aluminiumhydroxid ($Al(OH)_3$) am besten bewährt. Die Anwendung von Saponin (373,320), Sodiumalginat (174,175), Kalziumglukonat (175) und Pasteurella-Bakterin beruht ebenfalls auf einem Adjuvanseffekt der entsprechenden Substanzen. Abgetötete Mykobakterien als Adjuvans (90) werden nicht erwähnt.
McClelland setzte einer immunologisch unwirksamen "wäßrigen" Vakzine Arlacel-Mineralöl zu und konnte damit nach einmaliger Impfung bei Kälbern und Rindern die Bildung hoher Ak-Titer hervorrufen. Diese Beobachtungen wurden später von Kolar (175) bestätigt. Tribe et al. (354) fanden schließlich eine Öladjuvansvakzine einer anderen, Aluminiumhydrogel-Vakzine, bezüglich der Immunogenität überlegen.

2.3.1.2.1.4 Wirksamkeitsbestimmung im Rind

Die Immunantwort beim Rind nach einer Vakzinierung wird gewöhnlich anhand folgender Parameter gemessen (144):

- Testinfektion mit virulentem Virus und klinische Beobachtung der Impflinge,
- Bildung von Serumantikörpern, und
- Bildung sekretorischer Antikörper.

Außerdem werden für die Wertbemessung der Wirksamkeit von PI-3-Impfstoffen noch klinische Kriterien unter Praxisbedingungen herangezogen.

Die Folgen einer Testinfektion (T.I.) mit Virusmaterial aus niedrigen Zellkulturpassagen wird zwar bei der Bemessung eines Impferfolgs nicht allein ausschlaggebend sein, jedoch gibt sie im Zusammenhang mit anschließenden Virusisolierungsversuchen und/ oder Ak-Titer-Bestimmungen zumindest einen Eindruck vom Immunstatus des Impflings. Besonders wenn eine postvakzinale Infektion mit homologem Virus bzw. eine Feldvirusinfektion die Ausbildung klinischer Symptome, selbst bei niedrigem, oder nicht nachweisbarem Ak-Titer, vermissen ließ, wiesen anschließende Virusisolate oder Ak-Titeranstiege auf das Haften einer Testinfektion bzw. den Grad des Immunschutzes hin (45,106). Durch Einbeziehen seronegativer, unvakzinierter Kontrolltiere in den Versuchaufbau konnte die Wirksamkeitsbestimmung eines Impfstoffes durch eine T.I. noch vergrößert werden (353,232,120).
Matsuoka at al. (204) sezierten vakzinierte Kälber und unvakzinierte Kontrolltiere, nachdem diese 14 Tage zuvor durch Aufenthalt in einem warmen Raum und Berieselung mit kaltem Wasser, gestreßt, und mit PI-3-Virus und Pasteurellen infiziert worden waren. Danach waren die Lungen der unvakzinierten Kontrollen in stärkerem Maße pathologisch durch Abszesse, Emphyseme und/oder Ödeme und Fibrinauflagerungen verändert als die vakzinierter Kälber.
Ein derartiger Versuch erhöht zwar die Aussagekraft einer T.I., jedoch sind andererseits nicht standardisierbare Faktoren beteiligt, wonach eine generelle Vergleichsbasis zur Einbeziehung einer T.I. bei vergleichenden Wirksamkeitsbestimmungen nicht gegeben ist.

Eine aufwendige, aber sehr aussagekräftige Impfstoffbewertung stellt die Berechnung des Krankheitsindex dar (88). Dieser ergibt sich durch Summierung der Fiebertage, der Anzahl der Tage mit Leukopenie und 2 mal der Tage mit Krankheitssymptomen nach einer Testinfektion.

Die Untersuchung von Rinderseren auf Serumantikörper weist einerseits auf den absoluten Wert spezifisch gebildeter Ak im Serum hin, sagt jedoch nichts Eindeutiges über den Infektionsschutz in der respiratorischen Schleimhaut aus.
Im allgemeinen wird jedoch ein HAH-Ak- Serumtiter von 1:32 bis 1:40 (75) als ausreichend für den Schutz gegen eine Infektion

angenommen, doch fanden Hamparian et al. (123), daß Kälber mit N-Ak-Titer von 1:160 vor einer Infektion nicht geschützt waren; dies war erst bei einem Titer von 1:320 der Fall.
Tribe et al. (353) immunisierten Kälber 2 mal mit 500 HAU (haemagglutinating units) und stellten HAH-Titer von 1:80 bis 1:320 fest. Beim Hamster wurde durch Erhöhung des Inokulums über 400 HAU kein weiterer Ak-Titeranstieg (über 1:128) festgestellt, und beim Meerschweinchen bewirkten 1 000 HAU einen Ak-Anstieg auf 1:256.

PI-3 Impfstoffe, die nach Verimpfen einer MPD (minimum protective dose) einen HAH-Titer von mindestens 1:80 hervorrufen, werden demnach als genügend immunogen betrachtet (250,260,261).

Morein (234,235) untersuchte die Bildung sekretorischer Ak im Nasensekret subkutan geimpfter Kälber und fand einen bis zu 3fachen Anstieg der Ak-Titer, während die Serumantikörper im gleichen Zeitraum bis zu 5fach anstiegen. Die Bildung von sekretorischen Ak nach Impfungen mit inaktiviertem Virus hat dennoch für die Infektionsabwehr eine untergeordnete Bedeutung.

Bei der Beurteilung von Impfstoffen, die in teilweise umfangreichen Feldversuchen angewandt wurden (378,379,373)mußten zwangsläufig auch die Kriterien für die Bemessung des Impferfolgs geändert werden. Entweder wurden Unterschiede in der Gewichtszunahme vakzinierter Tiere im Vergleich zu unvakzinierten Kontrolltieren gemessen (379,378), oder der konsequenten Durchimpfung einzelner Betriebe folgte ein deutlicher Rückgang der Zahl respiratorisch erkrankter Kälber und Rinder (373).

Die Ergebnisse der bisher erwähnten Untersuchungen mit Impfstoffen aus inaktiviertem PI-3-Virus lassen folgende Gemeinsamkeiten erkennen:

- Impfstoffe aus inaktivierten Erregern bewirken nach mindestens 2-maliger parenteraler Verimpfung eine gute und belastungsfähige Immunität. Nach einer 3. Impfung können die Ak-Titer noch erhöht werden und bleiben auch länger nachweisbar.
- Der Impferfolg wird bestimmt durch die Art des Impfstoffes (Inaktivierungskriterien).
- Die Zugabe von Adjuvantien trägt entscheidend zur Immunogenität

der Vakzine bei.
- Maternale Antikörper beeinträchtigen die Impfstoffwirkung in starkem Maße.
- Die Bildung sekretorischer Ak bzw. einer lokalen Gewebeimmunität ist gering oder fehlt überhaupt.
- Die Anwendung von inaktiviertem PI-3-Virus als Komponente in Kombinationsvakzinen hat keine Verminderung der Immunogenität zur Folge.
- Lokale Reizungen an der Impfstelle werden mitunter beobachtet.
- Keine der üblicherweise angewandten Impfarten (s.c. und i.m.) läßt einen eindeutigen Vorteil erkennen.

2.3.1.2.1.5 Wirksamkeitsbestimmung im heterologen Versuchstier

Eine Wiksamkeitsbestimmung von inaktivierten PI-3-Virus-Vakzinen bei der Maus wurde bisher nur von Soulebot et al. (320) beschrieben. Dabei wurde ein Kombinationsimpfstoff verwandt, der außer PI-3- noch inaktiviertes Reo 1-Virus und inaktiviertes BAV 3 beinhaltete. Die Impfung erfolgte vergleichend in Kälbern (2 x 2 ml, s.c.) und in Mäusen (1/4 Rinderdosis).
Sowohl 2 als auch 3 Wochen nach der 1. Impfung, und ebenso 3 Wochen nach der 2. Impfung lag der Durchschnitt der Serum-Ak-Titer bei den Mäusen über denen, die bei den Kälbern im gleichen Zeitraum festgestellt wurden. Nach einer Impfung wurden Titerunterschiede von 0,82 log ($\hat{=}$2,7 $\log_2$) (14 Tage p.vakz.) bzw. 1,26 log ($\hat{=}$4,2 $\log_2$) (21 Tage p.vakz.), nach 2 Impfungen bis zu 1,46 log ($\hat{=}$4,9 $\log_2$) beobachtet.
Hamster wurden von Tribe et al. (353),
Meerschweinchen von Tribe et al. (353,354), McClelland (215) und Hilleman (129), und
Kaninchen von Kißling (170) mit inaktiviertem PI-3-Virus geimpft. Dabei boten sich sowohl Hamster als auch Meerschweinchen für vergleichende Wirksamkeitsbestimmungen an, während das Kaninchen nach der Impfung immunologisch nicht reagierte.

Ergebnisse von Impfungen mit inaktiviertem PI-3-Virus sind in den Tabellen 1 (monospezifische-), und 5 (Kombinationsimpfstoffe mit einer PI-3-Komponente) zusammengefaßt.

Tabelle 1 Impfungen mit inaktiviertem PI-3-Virus.

Autor u. Jahr d.Veröffentl.	Lit. Nr.	Virus-Stamm	Art der Inaktivierung	Adjuvans u. Stabilisator	Impfdaten	Messung des Impferfolgs	Bemerkungen
Hamparian et al. 1961	123	SF 4	Formalin	Arlacel A Mineralöl	26 Kälber 3-4 Mon. 10 ml i.m.	HAH-Ak-Titer Testinfektion	guter Impferfolg
McClelland et al. 1961	215	SF 4	Formalin (1:4 000)	Arlacel A Mineralöl Thimerosal	Meerschweinchen, i.m., s.c., i.p.	HAH-,N-,Kb-Ak-Titer	sehr guter Impferfolg, mit und ohne Adjuvans
					10 Rinder 3 Mon.-2 J. i.m., 10, 5, 2,5 ml	N- u. HAH-Ak-Titer	nach Vakz.: hohe Ak-Titer
				ohne Adjuvans			kein bis unsignifikanter Ak-Anstieg
Byrne et al. 1961	45	HA 1 SF 4	Formalin		seroneg. Kälber,6-12 Mon. 2x,5 ml i.m. 7 T. Abstand 3.Impfg. nach 3 Mon.	HAH-Ak-Titer	SF 4 Stamm besserer Impferfolg,
						Testinfektion	Virusisolation bei Ak-freiem Tier
Woods et al. 1961	375		Formalin		43 Kälber 7-9 Mon., 10 ml i.m.	Stroß, anschl. Ak-Titer	Vakz.: bei 53 % Titeranstieg 9 erkrankt
					44 Kontr.		Kontr.:bei 77,7 % Titeranstieg 5 erkrankt
Woods et al. 1962	377	SF 4	Formalin		57 Kälber 10 ml i.m. 16 K. 2x vakz 3 Wo. später 163 Kontr.	HAH-Ak-Titer	bei 2x vakz. keine Erkrankung
							1x vakz.: 12 % erkrankt, 2 % gestorb.
							9 % erkr., 3 % gest.
Woods et al. 1962	376	SF 4	Formalin		42 Kälber 10 ml i.m. 43 Kontr.	Ak-Titer	bei 80 % sign. Ak-Anstieg, 39 Tg.nach d.Vakz. Titer abgesunken

Tabelle 1 (Forts.)

Autor u. Jahr d.Veröffentl.	Lit. Nr.	Virus-Stamm	Art der Inaktivierung	Adjuvans u. Stabilisator	Impfdaten	Messung des Impferfolgs	Bemerkungen
Gale et al. 1963	95	SF 4	Formalin (0,5 %)	Mineralöl Arlacel A	142 Kälber 6-8 Mon. 10 ml, i.m. 3 x geimpft	HAH-Ak-Titer	hohe Ak-Titer nach 3. Impfg. mind. 2 Dosen notwendig
King et al. 1963	167		Formalin (0,5 %)		150 Kälber bis 8 Mon. 5 ml, i.m. 162 Kontr.	HAH-Ak-Titer	68 % d. Impflg.: über 3fachen Ak-Anstieg
						Transportstreß	Nasenausfluß, Fieber bei 12 % von 50 vakz. und 9,6 % von 83 Kont
Mohanty et al. 1964	232	SF 4	Formalin	Adjuvans	6 Kälber, 3-4 Mon. 10 ml i.m. 6 Kontr.	Streß, Testinf.: PI-3-Virus i.n. Pasteur. i.trach.	Kontr. erkrankten spezifisch
Woods et al. 1964	378	SF 4	Formalin (1:4000)	33 % 3 %iges Arlacel A Mineralöl 33 %	96 Kälber 4-10 Mon. 10 ml i.m. 180 Kontr.	HAH-Ak-Titer	Titeranstieg bei vakz. 4fach und höher
						Gewichtszunahme	
Hamdy et al. 1964	118	SF 4	Formalin	48,6 % leichtes Mineralöl 1,4 % Emulsions-agens	103 Kälber 5, 10 ml i.m. 3 x geimpft Kontrollen	Anzeichen von SF-Komplex nach Transportstreß Ak-Titer	Kein deutlicher Impferfolg
Hamdy et al. 1965	119	SF 4	Formalin	s.o. Hamdy et al. (118)	125 Kälber 6-9 Mon., 5 ml i.m., 3 x vakz. 175 Kontr.	Anzeichen von SF-Komplex nach Transportstreß Ak-Titer	Bildung hoher HAH-Ak-Titer, dennoch resp. Erkrankung
Woods et al. 1966	379	SF 4	Formalin	Adjuvans	60 Kälber 4-5 Mon. 10 ml i.m., 210 Kont.	Ak-Titer	keine Erkrankung nach der Impfung
						Gewichtszunahme	

Tabelle 1 (Forts.)

Autor u. Jahr d.Veröffentl.	Lit. Nr.	Virus-Stamm	Art der Inaktivierung	Adjuvans und Stabilisator	Impfdaten	Messung des Impferfolgs	Bemerkungen
Matsuoka et al. 1966	204	SF 4	Formalin	Adjuvans	17 Kälber 4-10 Wo. 2 x geimpft 14 Kontr.	HAH-Ak-Titer Testinfektion Transportstreß p.mortem Sektion	vakz.Tiere: höhere Ak-Titer weniger Temp.erhöhung -"- Lungenläsionen
Shefki et al. 1968	310		Formalin BPL	Bayol-Arlacel 20 % $Al(OH)_3$	8 Kälber, 6-8 Wo. 2 ml, i.m. 19 Kälber 6-10 Wo. 9 Kontr.	Ak-Titer nat. Infekt.	zufriedenstellender Impferfolg
Shefki et al. 1968	309		Formalin	Öliges Adjuvans	21 Zwillinge (Kälber) 21 vakz. 21 Kont	Ak-Titer nat. Infektion 3 Wo. p.Vakz.	Immunschutz bei seroneg.T., bei 5 vakz.T. resp. Erkankung
Gilmour et al. 1968	106	oviner PI-3-Schafstamm	Formalin 0,2 %	20 % Falba in Bayol	4 Schafe, 2 x vakz., 8 Wo. Abstand 3 Kontr.	Testinfektion	kein vakz. Tier erkrankt
					10 Schafe, 7-9 Mon. 1 x vakz		7 Virusausscheider
					10 Schafe 2 x vakz.		1 Virusausscheider
					10 Kontr.		10 Virusausscheider
						Ak-Titer	Kontr.: ≤4 1 x vakz.: 1:8-1:32 2 x vakz.: 1:16-1:64
Tribe et al. 1968	353	Frant	BPL Formalin PCE, 30 %ig	Al-phosphat 4 mg/ml Al-hydrogel 20 %	Hamster, 400 HE	Testinfektion HAH-Ak-Titer	vakz.blieben gesund Anstieg bis 1:128
					Meerschweinchen 1 000 HE	HAH-Ak-Titer	Anstieg bis 1:256
					seroneg.Kälber 2 x vakz. 2 Wo. Abstand	HAH-Ak-Titer	Anstieg der Serum-Titer: 1:80-1:320 nach 28 Tagen.

Tabelle 1 (Forts.)

Autor u. Jahr d.Veröffentl.	Lit. Nr.	Virus-Stamm	Art der Inaktivierung	Adjuvans und Stabilisator	Impfdaten	Messung des Impferfolgs	Bemerkungen
Gosset et al. 1970	109		Formalin		27 Kälber, 3 x vakz., Abstand 2 Wo.u.8-11 Mon. 28 Kontr.	HAH-Ak-Titer	Nach 2. u. 3 Impfg. Ak nachweisbar
						Transportstreß	keine Erkrankung
Morein 1970	234	Umea 23 B	Formalin	20 % Al-hydroxid	18 Kälber, 7 Mon., 2 x vakz. 2 Mon.Abstand	HAH-Ak-Titer im Serum:	Anstieg der Ak-Titer
						HAH-Ak-Titer im Nasensekret:	kein Anstieg
Frank et al. 1971	88	SF 4	Formalin		2 Kälber 15 Mon. 2 Dosen i.n.	Testinfektion	Krankheitsindex: +) 21, 29
					4 x vakz.		6, 7
	+) Summe der Fiebertage + Tage mit Leukopenie + 2 x Tage mit Krankheitssymptomen						
Morein 1972	235	Umea 23 B	inaktiviert		4 Kälber 10 ml s.c. Boosterimpfg. 2-3 Wo.später	HAH-Ak-Titer in a) Serum b) Nasensekret	1 x vakz. a) Titeranstieg 1-2fach b) 2fach 2 x vakz. a) Titeranstieg 3-5fach b) 1-3fach

2.3.1.2.2 Impfstoffe aus attenuierten, vermehrungsfähigen Erregern

Der erste PI-3-Impfstoff in der BRD wurde von Bögel und Liebelt (26, 28) hergestellt. Bis heute hat sich die Zahl der inzwischen entwickelten PI-3-Lebendimpfstoffe beträchtlich erhöht.
Sie sind entweder als Versuchsimpfstoffe in begrenzten Untersuchungen angewandt worden, oder als kommerziell vertriebene Vakzinen auf dem Markt. Als solche sind sie in monospezifischer Form, oder als Komponente in Kombinationsimpfstoffen erhältlich (362,32,257, 380,116,346,326,124,99,235,65,222,30,26,29,167,142,379,146,143,20, 213,178,185,63,111,107,297,151,381,104).

2.3.1.2.2.1 Virusstämme für die Impfstoffherstellung

Für die Impfstoffherstellung kamen in erster Linie vom Rind isolierte PI-3-Virusstämme zur Anwendung. Der von Bögel et al.(23,24) isolierte Stamm R-2 A wurde nach 5 Endverdünnungspassagen als Stamm R-2 V bezeichnet und fand anschließend in weiteren Versuchen seine Anwendung (362,257,213,107).
Weiterhin dienten die Stämme "TELC" (116,326),"SF 4" (346,99,116), "SF 3" und "V 1" (142), "Freistadt" (177) und "Sd 2" (282) als Impfstämme.
Haralambiev et al. (124) stellten aus dem PI-3-Stamm Michailovgrad, der aus abortierten Schafsfeten isoliert worden war, nach der Reinigung durch 3 Plaquepassagen einen Impfstoff her.

2.3.1.2.2.2 Attenuierung von PI-3-Virus zur Impfstoffherstellung

Das Ziel der Virusattenuierung ist die Abschwächung der Virulenz für den Impfling. Dies kann geschehen durch:
- Serienpassagen in homologen Zellkulturen, und
- Serienpassagen in heterologen Zellkulturen.

Bei Serienpassagen in homologen (ENK-) Zellkulturen verliert das Virus mit steigender Passagenzahl an Virulenz für den Impfling. Nach i.n. Impfung von Kälbern mit unterschiedlichem Immunstatus

mit PI-3-Virus, das 10-12 ENK-Passagen durchlaufen hatte, zeigten alle Impflinge 2-4 Tage nach der Inokulation Fieber (bis 41.4° C), Leukopenie und Atembeschwerden (88).
Bei der Anwendung von Impfstoffen, die über mehr als 65 ENK-Passagen geführt waren, blieben die Impflinge immer noch nicht fieberfrei (bis 40.0°C) (26).
Die von Mayr et al. (213) und Goedemans (107) gewonnenen Erfahrungen zeigten schließlich, daß aus der Attenuierung von PI-3-Virus in über 150 fortlaufenden ENK-Passagen ein Impfvirus resultierte, das nach s.c. Applikation keine erkennbaren Krankheitserscheinungen hervorrief.
Wirksamkeitsbestimmungen von in heterologen Zellkulturen (Schweinenieren-Zellkulturen) -teilweise auch zusätzlich- attenuiertem PI-3-Virus wurden von Woods et al. (381), Gutekunst et al. (116), Steves et al. (326) und Haralambiev et al. (124) durchgeführt.
Goedemans (107) adaptierte das in ENK-Zellkulturen attenuierte PI-3-Virus (213) noch in 3 Passagen an die MDBK (Madin Darby Bovine Kidney-) -Zellinie, bevor er mit diesem Antigen Mäuse vakzinierte.

2.3.1.2.2.3 Wirksamkeitsbestimmung im Rind

Bei der Beurteilung von Lebendvakzinen setzte Rweyemamu (291) Kriterien fest, die hier erwähnt werden, jedoch ebenso für andere Virus-Lebendvakzinen gelten. Ideales Impfvirus soll:

- keine klinischen Reaktionen provozieren,
- sich im Impfling genügend vermehren und eine stabile Immunität stimulieren,
- selbst nach einigen Passagen im Impfling nicht die ursprüngliche Virulenz wiedererlangen,
- antigene Ähnlichkeit mit dem Krankheitserreger haben,
- in Exkreten nicht in virulenter Form ausgeschieden werden, oder zumindest nicht in Mengen, die in empfänglichen Tieren eine Krankheit erzeugen können, und
- nicht mit Kontaminanten vergesellschaftet sein.

Ergänzend dazu muß bei der Anwendung von attenuiertem PI-3-Virus

in Kombinationsvakzinen die Kompatibilität mit anderen Antigenen gesichert sein (343).

Diese Forderungen müssen bei der Wirksamkeitsbestimmung von PI-3-Lebendimpfstoffen ebenso berücksichtig werden, wie Anstiege postvakzinaler Serum-Ak- und Nasensekret-Ak-Titer, klinische Erkrankung und Virusisolation nach Testinfektionen und Persistenz der Immunität.

Da für PI-3-Lebendimpfstoffe keine Standardforderungen existieren, werden dafür Wirkungscharakteristika herangezogen. Danach soll die MID (minimum infective dose) 500 KID_{50}/2 ml, und die SCR (serologic conversion range) 1:2 bis 1:320 betragen und außerdem die MPD (minimum protective dose) stets überschritten werden (260). Phillips (262) forderte schließlich einen Mindestinfektiositätstiter von $10^{4,2}$ KID_{50}/2 ml.

Impfungen mit entsprechenden Vakzinen bewirkten nach s.c., i.n., i.m., oder kombinierter Anwendung einen Anstieg der Serumantikörpertiter (297,151,146,213,185,111,21,116,346,124,26).
Signifikante Titeranstiege wurden jedoch bei seronegativen Impflingen häufiger beobachtet (213,151,28,257), wobei gerade diese auf die Impfung mit Temperaturerhöhung reagierten (21).

Nach i.n. Impfung konnten spezifische Antikörper im Nasensekret nachgewiesen werden (107,235,222). Durch diesen Impfmodus, der einer kombinierten i.n. und i.m. Impfung durchaus ebenbürtig erscheint (28,32,257,26), konnte der immunsuppressive Effekt maternaler Ak aufgefangen werden.
Der zusätzlichen i.m. Impfung wird von Bögel et al. (32) ein gewisser Wert zugeschrieben, doch wird man bei jungen Tieren mit hohen Kolostral-Ak auf eine Boosterimpfung nach Verschwinden des passiven Immunschutzes im Alter von ca. 6 Monaten nicht verzichten können (32).

Postvakzinale Testinfektionen (T.I.) und anschließende Virusisolierungungen veranschaulichten die immunogene Wirkung von PI-3-Lebendvakzinen (178), und wiesen außerdem auf den Vorteil der intranasalen Impfung hin (99).
PI-3-Lebendimpfstoffe können, im Gegensatz zur Anwendung von Impf-

stoffen aus inaktivierten Erregern, gefahrlos bei Notimpfungen eingesetzt werden (177,213). Ein weiterer Vorteil liegt in:

- der schnellen Entwicklung einer Immunität,
- der Inokulation einer geringeren Dosis,
- der Entwicklung lokaler Gewebeimmunität, und
- dem Verzicht auf Adjuvantien.

Die Anwendung von PI-3-Lebendimpfstoffen bei trächtigen Kühen und Besamungsbullen ist jedoch kontraindiziert (96).

2.3.1.2.2.4 Wirksamkeitsbestimmung im heterologen Versuchstier

Goedemans (107) impfte Mäuse mit einem Kombinationsimpfstoff, der in ENK-Zellkulturen attenuiertes, und an die MDBK-Zellinie adapiertes PI-3-Virus, in KH-Zellkulturen attenuiertes und ebenfalls an die MDBK-Zellinie adaptiertes BVD-MD-Virus und inaktiviertes P.hämol.-Ag mit 0,32 % $Al(OH)_3$ beinhaltete, subkutan. Ein Teil der Mäuse erhielt vor der Impfung s.c. spezifisches Kälber-Antiserum. Danach zeigten P.hämol.-Ag und $Al(OH)_3$ zusammen einen größeren (synergistischen) Adjuvanseffekt als jede der Substanzen für sich allein. Die immunsuppressive Wirkung vorhandener Ak konnte durch Hinzufügen von $Al(OH)_3$ erheblich vermindert werden.

Bei der Verwendung von Meerschweinchen konnten Woods et al. (380) nach einmaliger i.m. Impfung mit PI-3-Lebendimpfstoff HAH-Ak-Titer von 1:40 bis 1:320 nachweisen, während Jensen (142) und Kißling (170) erst nach einer Boosterimpfung eine Ak-Bildung feststellten.

Mit Kaninchen machte Kißling (170) die gleiche Erfahrung, während Hühner schon nach der 1. Impfung Ak bildeten.
Jensen (142) und Kißling (107) impften die Tiere i.p. bzw. s.c.

Ergebnisse von Impfungen mit attenuiertem PI-3-Virus sind in den Tabellen 2 (monospezifische-) und 6 (Kombinationsimpfstoffe mit einer PI-3-Komponente) zusammengefaßt.

Tabelle 2 Impfungen mit attenuiertem PI-3-Virus

Autor u. Jahr d.Veröffentl.	Lit. Nr.	Virus-Stamm	Impfungen	Impfdaten	Messung des Impferfolgs	Bemerkungen
Bögel et al. 1963	28	Sd 2	ca. 300 Kälber	2 ml i.m.,i.n.	Ak-Titer von 184 Tieren	Titeranstieg bei seroneg. Tieren
					Haften d. Impfg.	bei 77,7 % der vakz. Tiere
Weisser 1963	362	Sd 2	265 Kälber	178 i.m.u.i.n.	HAH-Ak-Titer	Anstieg bei 27 % der vakz. Tiere
				87 i.m.	Persistenz d. Ak	bei 67 % nach 2-3 Mon. Titer ab-
				2 x vakz.	HAH-Ak-Titer	bei 59 % Ak-Anstieg gefallen
Bögel et al. 1964	32		184 Rinder bis 12 Mon.	64 2 x i.n.	HAH-Ak-Titer	Ø Titer $2^{-3,51} \rightarrow 2^{-4,49}$
				120 5 ml i.m. und i.n.		Ø Titer $2^{-3,49} \rightarrow 2^{-4,56}$ Komb.Vakz. nicht besser als Einf.
Pette et al. 1964	257	R 2 V	178 Kälber	2 ml i.n. u. 5 ml i.m.	HAH-Ak-Titer	Bei seroneg.Tieren Titeranstieg
			87 Kälber	5 ml i.m.		Applikation und Ausgangstiter bestimmen den Impferfolg. Kombinierte Impfg. nicht überlegen
			151 Kälber	2 x geimpft 5 ml i.m.		
Kubin 1966	177	Freistadt	709 Rinder Kontrollen	2 ml i.m. u. i.n.	Testinfektion	keine Erkrankung
					Notimpfung	günstigerer Verlauf der Erkrankg.
Woods et al. 1968	380		Meerschweinchen	1 ml i.m.	Ak-Titer	4 Wo. p.vakz. Ak-Titer: 1:40-1:320
			93 Kälber 182 Kontr.	2 ml i.m. 3-4 Wo. vor Absetzen	HAH-Ak-Titer	maternale Ak schmälern Impferfolg
					postvakz. Erkrankung	vakz.: 4,3 %, Kontr.: 3,3 %
					Gewichtszunahme	bei den vakz. Tieren stärker
Gutekunst et al. 1969	116	TELC	109 Kälber 5-7 Mon.	2 ml i.n.	Ak-Titer Testinfektion	hohe Ak-Titer bei vakz. Tieren Titeranstieg bei i.m. vakz. T.
		SF 4		i.m.		i.n. Vakz. besser als i.m. Vakz.

Tabelle 2 (Forts.)

Autor u. Jahr d.Veröffentl.	Lit. Nr.	Virus-Stamm	Impfungen	Impfdaten	Messung des Impferfolgs	Bemerkungen
Bögel et al. 1962	26	Sd 2	6 Kälber 9 Tage - 7 1/2 Mon.	i.n., s.c., i.v., i.m.	Ak-Titer	Ak-Anstieg bis max. 1:256 Komb.Vakz. i.m.u.i.n. bei seroneg. T. nicht besser als i.n.Vakz. bei vakz.T. Temp.erhöhung bis 40°C.
Jensen et al. 1962	142	V 1 u. SF 3	Meerschweinchen	0,5 ml i.p. 3 x vakz.	Ak-Titer	2 Vakz. nötig um Immunantwort zu erreichen. SF 3 bewirkt höhere Ak-Titer als V 1.
Bögel et al. 1963	30		189 Kälber	2 ml i.n. 2.Impfg. 5 ml i.m.	HAH-Ak-Titer	maternale Ak hemmen akt. Immunität
					Virusausscheidung	heterologes Virus im Nasensekret, keine Krankh.-symptome bei Impfg.
Bögel et al. 1963	29		15 Kälber 1-7 Mon. 139 Kälber	i.n.,i.m. i.n. u. i.m.	Ak-Titer	Titeranstieg bei älteren Tieren
					Virusausscheidung	bei Kälbern bis zu 3 Mon. im Nasensekret nach der Impfung
King et al. 1963	167		15 Kälber 17 Kontr.	i.n.	Ak-Titer	Ak-Titer vor Impfg. 0-1:16 -"- nach Impfg. 0-1:1 024
Thorsen et al. 1969	346	SF 4	seroneg. Kälber 1-24 Wo.	i.m.	HAH-Ak-Titer	Titeranstieg auf Ø 1:53
					Testinfektion 2 ml Ag i.n. u.i.tr.	Klin. Symptome bei 2 vakz. T. Fieber bei Kontr. häufiger
Steves et al. 1970	326	TELC	1 760 Kälb. 16 669 Kontr. 100 vakz. u. 94 Kontr. bewertet	i.n., 151 T. i.m.	postvakz.Therapie	vakz.: 3,4 % Kontr.: 7,5 %
					Mortalität	vakz.: 0,3 % Kontr.: 2,6 %
					Mehrerlös	vakz.: 0,65 $ - 1,38 $/cwt.+) +) 100 lb. Lebendgewicht

Tabelle 2 (Forts.)

Autor u. Jahr d.Veröffentl.	Lit. Nr.	Virus-Stamm	Impfungen	Impfdaten	Messung des Impferfolgs	Bemerkungen
Haralambiev et al. 1970	124	Michailovgrad	2 Kälber	2 ml s.c.	HAH-Ak-Titer	Ak-Anstieg von <1:8 - 1:128
			2 Kälber	2 ml i.n.	Testinfektion	Kontr. erkrankten spezifisch
			2 Kälber	20 ml i.tr.	15 Tg. p.vakz. 20 ml i.tr.	Ak-Titer stiegen bis 1:1 024
			4 Kontr.			
Gates et al. 1970	99	SF 4	6 Kälber 2 Mon.	2 ml i.m.	N-Ak-Titer	Nach Testinfekt. bei i.n. vakz. T. keine Virusausscheidung
			6 Kälber	2 ml i.n.	2 x Testinfektion	Nach 1. Testinfekt. bei i.m. vakz. T. Virusausscheidung
Morein 1972	235		3 Kälber	2 ml i.n.	HAH-Ak-Titer in a) Serum, b) Nasensekret	a) 3-4facher Titeranstieg b) bis 3facher -"-
Cvetnić et al. 1972	65		Feldversuch		Erkrankungen an ARI (acute respiratory infect.)	0,87 - 2,12 % der vakz. Tiere erkrankten
McKercher et al. 1972	222		48 Kälber 6 Wo.- 5 Mon. 16 Kontr.	2 ml i.n. i.m.	N-Ak-Titer in Serum und Nasensekret	Ak-Anstieg im Serum größer als im Nasensekret nach der Impfung bei seroneg. Kälbern
					Testinfektion	Keine Krankheitssymptome bei vakz. Tieren
Kißling 1972	170	R 2 V	Kaninchen	1 ml s.c. Boosterimpfg. 3 Wochen später	Ak-Titer nach 1., nach 2. Impfg.	Ak-Titer: <1:2 bis 1:64
			Meerschweinchen		nach 1. Impfg. nach 2. Impfg.	<1:2 bis 1:64
			Hühner		nach 1. Impfg. nach 2. Impfg.	1:4 - 1:8 bis 1:128

2.3.2 Reoviren

Reoviren wurden bei Rindern erstmals 1960 nachgewiesen (278). Dabei zeigte sich, daß die isolierten Serotypen 1, 2 und 3 mit den beim Menschen und anderen Säugetieren vorkommenden Serotypen identisch waren (278,280).

2.3.2.1 Antikörper und Immunität

Auf eine Infektion mit Reoviren antwortet das Rind mit der Bildung von:
- neutralisierenden -,
- hämagglutinationshemmenden - und
- komplementbindenden Antikörpern (279,292).

2.3.2.1.1 Neutralisierende Antikörper (N-Ak)

N-Ak in Rinderseren weisen auf einen früheren Kontakt mit dem Antigen hin, und lassen auch eine Typendifferenzierung zu. Daten über die Kinetik N-Ak beim Rind sind nicht bekannt.

2.3.2.1.2 Hämagglutinationshemmende Antikörper (HAH-Ak)

Der Nachweis von HAH-Ak wird durch den Hämagglutinationshemmungstest (HAH-Test) geführt. Er wurde bis heute fast ausschließlich angewandt, obwohl eine direkte Beziehung zwischen HAH-Ak und einer humoralen Immunität gegenüber einer Reovirus-Infektion noch nicht nachgewiesen werden konnte.
Nach experimenteller Infektion erscheinen HAH-Ak gegenüber Reovirus frühestens am 3.-4. Tag (184) bzw. bis zu 2 Wochen post infectionem (278,352). Der Ak-Spiegel stieg danach stetig an und erreichte 2-4 Wochen nach der Infektion seine höchsten Werte, die bei natürlich infizierten Tieren bis $\geq$1:1 024 reichten (370); diese konnten dann mehrere Monate lang nachgewiesen werden (352,

278,184).
Kreuzreaktionen zwischen Serotyp 1 und 2 deuten auf eine engere Antigen-Verwandtschaft hin, als dies bei Serotyp 3 der Fall ist. So konnte nach Infektionen mit Reoviren neben HAH-Ak gegenüber dem Inokulum bzw. gegenüber dem entsprechenden Serotyp bei natürlicher Infektion auch eine Bildung heterologer Antikörper festgestellt werden (280,352,184,2). Letztere erreichten in der Regel nicht die Konzentrationen der homologen HAH-Ak.

Der Nachweis von HAH-Ak im HAH-Test kann durch sogenannte unspezifische Inhibitoren, d.h. in Rinderseren vorkommende Substanzen, welche die hämagglutinierende Aktivität von Reoviren hemmen, derart beeinflußt werden, daß die Ergebnisse nicht mehr den wahren Sachverhalt wiedergeben.
Entsprechende Substanzen wurden in Humanseren durch Chymotrypsin und Phospholipase C inaktiviert, worauf Schmidt et al. (299) die Inhibitoren als möglicherweise hitzestabile Phospholipid-Protein-Komplexe bezeichneten. Mann et al. (199) sahen in diesen Inhibitoren Lipoproteinkomplexe und schlugen zu deren Beseitigung die Anwendung von Heparin-Manganchlorid vor, da die Serumbehandlung mit 12,5 %igem Kaolin 40-60 % der Immunglobuline mit entfernte. Hartley et al. (125) fanden nach der Kaolinbehandlung von Mäuseseren einen 4-8fachen Abfall der Ak-Titer.

Obwohl unspezifische Inhibitoren als solche noch nicht isoliert wurden, und ihre Existenz nach wie vor umstritten ist, wird die Inhibitorbehandlung in Rinderseren mit Kaolin generell angewandt.

2.3.2.1.3 Komplementbindende Antikörper (Kb-Ak)

Kb-Ak sind lediglich gruppenspezifisch und haben somit für den Nachweis serotypenspezifischer Ak keine Bedeutung (279,292).
Für die Diagnose stattgehabter Reovirus-Infektionen wird die Komplementbindungsreaktion (KBR) deshalb nicht angewandt.

2.3.2.1.4 Kolostralimmunität

Reovirus-Antikörper können über das Kolostrum auf das Kalb übertragen werden. Rosen et al. (280) untersuchten den Rückgang des maternalen Immunschutzes bei 109 Kälbern aus 3 Farmen.
Die Tiere hatten gegen 1, 2 oder alle 3 Serotypen Antikörper.
Trotz einer vorhandenen Korrelation zwischen serotypenspezifischen Ak bei den Müttern und ihren Kälbern, wiesen zahlreiche Kälberseren Ak auf, die im Mutterserum nicht nachweisbar waren, und umgekehrt.
Während 1 Monat nach der Geburt noch 74 % der Kälber Kolostral-Ak besaßen, waren nach 5 Monaten nur noch bei 3 % der Kälber maternale HAH-Ak nachweisbar.

2.3.2.2 Impfstoffe gegen die Reovirus-Infektion

Gegen die Reovirus-Infektion bei Rindern wurden bisher in der Literatur noch keine Impfstoffe aus attenuierten, vermehrungsfähigen Erregern beschrieben.
Inaktiviertes Reovirus wurde jedoch als Komponente in kommerziellen - und Versuchsimpfstoffen in Kombinationsvakzinen mit einbezogen.
Ein monospezifischer Versuchsimpfstoff wurde ebenfalls beschrieben (357).

2.3.2.2.1 Impfstoffe aus inaktivierten Erregern

Den ersten Kombinationsimpfstoff mit einer inaktivierten Reovirus-Komponente stellten Shefki und Benge (311) her. Er enthielt -PI-3-Virus, -BAV 3 und inaktiviertes Reovirus Serotyp 1.
Ein ähnlicher, später als "Pneumovac", oder nach Supplementierung von -IBR-IPV- und inaktiviertem BVD-MD-Virus, "Pneumovac plus" genannter Impfstoff kam in Großbritannien auf den Markt.
Beide Impfstoffe wurden von Davidson et al. (73) und Phillip et al. (259) auf ihre Wirksamkeit untersucht.
"Pneumovac plus" ist in der BRD als "Polyvalente Virus-Pneumonie-Vakzine" erhältlich.

Soulebot et al. (320) untersuchten die Wirksamkeit eines weiteren kommerziellen Kombinationsimpfstoffes mit denselben Komponenten wie der von Shefki und Benge entwickelte, und Clegg et al. (57) verglichen einen kommerziellen Kombinationsimpfstoff (PI-3, BAV 3, Bedsonia) mit einer supplementierten Vakzine, die außerdem noch inaktiviertes Reovirus Serotyp 1 und einen "BVD-Faktor" enthielt, und bei der auf Bedsonia-Antigen verzichtet wurde.
Der von Wizigmann (350) entwickelte Kombinationsimpfstoff (siehe 3.1.5.1) enthält als einziger bisher beschriebener, außer Reovirus Serotyp 1 auch noch den Serotyp 3.

2.3.2.2.1.1 Herstellung der Impfstoffe

Shefki et al. (311) inaktivierten den in BHK 21-Zellkulturen gezüchteten WBR 26-Stamm von Reovirus Serotyp 1 mit BPL bei 37° C über 2 Std. und mischten das Antigen mit einer vorhandenen Vakzine, die in vorausgegangenen Versuchen gute Ak-stimulierende Wirksamkeit gezeigt hatte. Dieser Kombinationsvakzine (PI-3,BAV 3, Reo 1) wurde noch "Alhydrogel"-Saline in 20 Vol.% Endkonzentration zugesetzt.
Inaktivierungsmittel und Adjuvantien bei kommerziellen Impfstoffen wurden nicht näher beschrieben.
Vidor (357) inaktivierte Reovirus durch Hitzeeinwirkung (95° C, 15 Sek.) bzw. Formalin (1:1 000, 60 Std. 37° C), und stellte durch unterschiedliche Adjuvanszugaben ($Al(OH)_3$, Saponin) verschiedene Versuchsimpfstoffe her.

2.3.2.2.1.2 Wirksamkeitsbestimmung im Rind

Die von Shefki et al. (311) entwickelte Vakzine bewirkte hohe, gegen die Reo 1-Komponente gerichtete, HAH-Ak (HAH-Test mit Schweineerythrozyten), die bei 7 Kälbern vor der Impfung bei <1:20, und nach der 2. Impfung zwischen 1:160 und >1:5 120 lagen.
Als Ak-Titer wurde jedoch diejenige Serumverdünnung gewertet, die eine 50 %ige Hemmung der Hämagglutination bewirkte. Die bisher

untersuchten kommerziellen Impfstoffe bewirkten ebenfalls hohe HAH-Ak-Anstiege (320,73,57,259), jedoch stellte sich ein zufriedenstellender Impferfolg erst nach zweimaliger Impfung ein, und es zeigte sich auch hier, daß vorhandene Ak bei Kälbern die Ausbildung einer aktiven Immunität negativ beeinflussen (320).

Postvakzinale Testinfektionen mit homologem Virus sind bisher nicht beschrieben worden.

2.3.2.2.1.3 Wirksamkeitsbestimmung im heterologen Versuchstier

Die immunogene Wirkung von inaktiviertem Reovirus Serotyp 1 in Mäusen wurde von Vidor (357) mittels einer monospezifischen Versuchsvakzine, und Soulebot et al. (320) anhand der Reovirus-Komponente in einem kommerziellen Impfstoff untersucht.
Das von Vidor (357) durch Hitzeeinwirkung inaktivierte Reovirus konnte weder ohne noch mit Adjuvanszusätzen eine Ak-Bildung in der Maus hervorrufen. Eine Boosterimpfung zeigte auch keine besseren Ergebnisse.
Mit Formalin inaktiviertes Reovirus bewirkte nach einmaliger bzw. zweimaliger s.c. Impfung einen Ak-Anstieg auf 1:64 bzw. 1:256. Nach Adjuvanszugabe zu der Versuchsvakzine konnten nach entsprechender Impfung signifikant höhere Ak-Titer festgestellt werden. Alle Mäuseseren waren mit Kaolin vorbehandelt.

Die von Soulebot et al. (320) unternommenen vergleichenden Impfungen von Mäusen und Kälbern sind unter 2.3.1.2.1.5 beschrieben.
Für die Reo 1-Komponente gilt das gleiche wie für die PI-3-Komponente. Die durchschnittlichen Ak-Titer lagen bei den Mäusen 3 Wochen nach der 1. Impfung um 1,81 log ($\hat{=}6,0 \log_2$) höher als bei den entsprechend geimpften Kälbern.

Ergebnisse der Impfungen mit Kombinationsvakzinen mit inaktivierter Reovirus-Komponente sind in der Tabelle 5 zusammengefaßt.

2.3.3 Bovine Adenoviren

Alle Adenovirusstämme, die bis heute vom Rind isoliert und identifiziert wurden, können in 8 Serotypen (BAV 1-8) eingeteilt werden (11,13).
Infektionen mit Adenoviren verlaufen in der Regel klinisch inapparent (139,72,71,62). Als Krankheitssymptome bei erkrankten Tieren werden Nasen- und Augenausfluß, Enteritis und Pneumonie beobachtet (206,71,72).
Bovine Adenoviren haben bei der Entstehung respiratorischer Erkrankungen bei Rindern eine große Bedeutung (69,68,71,72,70).

2.3.3.1 Antikörper und Immunität

Natürliche oder experimentelle Infektionen mit bovinen Adenoviren hinterlassen beim Rind im Serum nachweisbare:
-neutralisierende Antikörper,
-hämagglutinationshemmende Antikörper,
-komplementbindende Antikörper und
-präzipitierende Antikörper.

2.3.3.1.1 Neutralisierende Antikörper (N-Ak)

Der Nachweis neutralisierender Antikörper im Rinderserum hat sich für die Beurteilung des humoralen Immunstatus der Tiere durchgesetzt (288). Kreuzreaktionen zwischen einzelnen Serotypen (Typ 4, 5, 6, 7 und 8) sind beschrieben worden, sie sind jedoch nicht deutlich ausgeprägt (12).
N-Ak erscheinen im Serum in der 1. Woche nach der Infektion, erreichen zwischen der 2. und 3. Woche ihre größte Konzentration, und konnten 160 Tage lang nachgewiesen werden (6,12).
Darbyshire (71) stellte 10 Wochen nach einer Infektion noch gleichbleibende N-Ak-Titer fest.

2.3.3.1.2 Hämagglutinationshemmende Antikörper (HAH-Ak)

Mohanty et al. (253) und Darbyshire (71) infizierten Kälber mit BAV 1 (Nr. 10 bzw. WBR 50). 7 Tage nach der Infektion konnten HAH-Ak nachgewiesen werden, die 1 bis 2 Wochen später ihren höchsten Titer erreichten und anschließend wieder langsam abfielen (253).

2.3.3.1.3 Komplementbindende Antikörper (Kb-Ak)

Kb-Ak gegenüber bovinen Adenoviren sind gruppenspezifisch. So haben die Serotypen 1, 2 und 3 einerseits und die Serotypen 4, 5, 6, 7 und 8 andererseits jeweils ein gemeinsames komplementbindendes Antigen.
Der Nachweis Kb-Ak in der Komplementbindungsreaktion erscheint für serologische Bestandsuntersuchungen schlecht geeignet, da in verschiedenen Rinderseren, die N-Ak aufwiesen, Kb-Ak nicht mehr festgestellt werden konnten (192).

2.3.3.1.4 Präzipitierende Antikörper (P-Ak)

Präzipitierende Antikörper sind bei Rindern noch seltener nachweisbar als Kb-Ak (364).
Nach Darbyshire (71) können sie noch 10 Wochen nach einer Infektion nachgewiesen werden.

2.3.3.1.5 Kolostralimmunität

Die Übertragung von Serumantikörpern von der Kuh auf das Kalb wurde von Rondhuis (277) untersucht.
13 Kühe besaßen Serumantikörper mit Titern zwischen 1:5 und ≥1:320. Bei allen Tieren konnte eine Konzentration dieser Serumantikörper gegenüber BAV 2 im Kolostrum festgestellt werden, d.h. die entsprechenden Kolostrumantikörpertiter lagen bei jedem Muttertier über denen der Serumantikörpertiter.

Alle Kälber dieser Kühe hatten nach Kolostrumaufnahme Ak-Titer, die im Bereich der Serumantikörpertiter ihrer Mütter lagen. Kälber, die nach der Kolostrumaufnahme Ak-Titer von >1:40 besaßen, hatten 10 bis 12 Wochen nach der Geburt noch einen nachweisbaren maternalen Immunschutz.
11 von 20 weiteren Kälbern hatten 16 Wochen nach der Geburt noch Ak-Titer von 1:10 bis 1:20, bei den restlichen Tieren war er zwischenzeitlich auf <1:5 abgefallen.

2.3.3.2 Impfstoffe gegen BAV-Infektionen

Inaktivierte bovine Adenoviren wurden hauptsächlich als Komponente in Kombinationsimpfstoffen angewandt (311,354,57,73,320,259,373). Daneben stellten Bartha (12), Bürki (41) und Tribe et al. (354) auch monospezifische BAV-Impfstoffe her.

2.3.3.2.1 Impfstoffe aus inaktivierten Erregern

Bartha (12) entwickelte 1967 den ersten monospezifischen BAV-Impfstoff. Der bei bovinen Pneumoenteritiden am häufigsten beobachtete ätiologische Erreger, BAV Serotyp 4, diente als Ausgangsmaterial.

Derselbe Serotyp wurde auch von Bürki (41) für die Herstellung verschiedener Impfstoffe benutzt.

Bei der Zusammenstellung von Kombinationsimpfstoffen mit einer BAV-Komponente kam ausschließlich BAV Serotyp 3 zur Anwendung (57, 311,354,73,320,259).
Wizigmann (372) stellte aufgrund der epidemiographischen Verbreitung boviner Adenoviren und ihrer hohen Beteiligung bei der Entstehung der Rindergrippe einen Kombinationsimpfstoff mit 3 Serotypen (BAV 1, 3 und 5) boviner Adenoviren zusammen.

2.3.3.2.1.1 Herstellung der Impfstoffe

Die Züchtung des Virusmaterials für die Impfstoffherstellung

erfolgte in Kälberhodenzellkulturen (Serotyp 1, 4, 5) (12,372, 41) und Kälbernierenzellkulturen (Serotyp 3) (311,372,354).
Das geerntete Virusmaterial wurde anschließend mit Formalin (372, 354,12) oder BPL (311,41,320) inaktiviert.
Als Adjuvanszusätze wurden Aluminiumhydroxid (311,41,354,320,259), verschiedene Mineralöle (354,41) und Saponin (320,372) angewandt.
Durch Zusätze von Merthiolat sollte die Beständigkeit der Vakzine verlängert werden (41).

2.3.3.2.1.2 Wirksamkeitsbestimmung im Rind

Nach ein- bzw. zweimaliger Impfung von 4 Kälbern mit Ausgangstitern von ≤1:4 mit Formalin-inaktiviertem (0,3 %, 24 Std., 37° C) BAV Serotyp 4 konnte zwar eine Bildung spezifischer Antikörper beobachtet werden, jedoch stiegen die Titer nur bis maximal 1:8 an.
Ein Kalb bildete heterologe Antikörper gegenüber BAV Serotyp 5 (1:2) (12).
Die Wirkungssteigerung von Adjuvanszusätzen in monospezifischen BAV-Vakzinen konnte Bürki (41) nachweisen. Durch die Erhöhung der Aluminiumhydroxidkonzentration in einem BPL-inaktivierten BAV Serotyp 4-Impfstoff von 10 auf 20 %, und Mischung dieser Vakzine mit Tween 80/Arlacel A/Bayol F im Verhältnis 30:70 (30 Teile Adjuvans), konnte die immunogene Wirkung dieses Versuchsimpfstoffes beträchtlich gesteigert werden.

BAV 3-Komponenten in Kombinationsimpfstoffen zeigten in Rindern eine starke antikörperstimulierende Wirkung.
Shefki et al. (311) wiesen bei 7 6-Wochen alten Kälbern eine bis zu 8fache Ak-Titererhöhung gegenüber BAV Serotyp 3 (passiver Hämagglutinationstest) nach. Bei diesen Versuchen wurde mit einer Kombinationsvakzine (PI-3, Reo 1, BAV 3, 20 % Aluminiumhydrogel-Saline) zweimal im Abstand von 14 Tagen geimpft.
Das immunologisch am geringsten reagierende Kalb zeigte jedoch lediglich einen Ak-Anstieg um eine Serumverdünnungsstufe.

Unter ähnlichen Versuchsbedingungen untersuchten Tribe et al. (354) die Wirkung verschiedener Adjuvantien in monospezifischen BAV 3-

und BAV 3- und PI-3-Kombinationsimpfstoffen in kolostrumfreien Kälbern. Dabei bewirkte eine Ölemulsion-Kombinationsvakzine höhere Ak-Titer als eine Aluminiumhydroxid-Vakzine. Das BAV 3-Antigen bewies in jedem Versuch seine starke immunogene Wirkung, die bei der Anwendung in der Kombinationsvakzine nicht beeinträchtigt wurde.

Die Untersuchungen von Clegg et al. (57), Davidson et al. (73), Soulebot et al. (320) und Phillip et al. (259) zeigten, nach Impfungen von Kälbern und Rindern mit Kombinationsimpfstoffen, die gute antikörperstimulierende Wirkung der in den Impfstoffen jeweils enthaltenen BAV 3-Komponenten.

2.3.3.2.1.3 Wirksamkeitsbestimmung im heterologen Versuchstier

Meerschweinchen dienten Tribe et al. (354) und Bürki (41) als heterologe Versuchstiere. Sie eigneten sich ausgezeichnet für die Wirksamkeitsbestimmung einer BAV 3-Komponente in Kombinationsimpfstoffen und bei monospezifischen Impfstoffen.

Mäuse wurden für vergleichende Untersuchungen ebenfalls eingesetzt (320). Ihre Antikörperbildung war nach einmaliger Impfung um 0,53 log (≙1,8 $\log_2$) stärker als die zweimal geimpfter Kälber (geometrischer Mittelwert). Die Boosterimpfung bewirkte bei den Kälbern eine deutliche Erhöhung des Ak-Titers.

2.3.3.2.2 Impfstoffe aus attenuierten, vermehrungsfähigen Erregern

Die Herstellung eines BAV-Lebendimpfstoffes wurde bisher in der Literatur einmal beschrieben.
Der 1962 isolierte BAV Serotyp 4, Stamm THT/62 wurde von Bartha (12) in Kälberhodenzellkulturen über 72 Passagen geführt und diente nach Chloroform-Behandlung (20 Vol. % , 18 Std. bei 4° C) als Ausgangsmaterial für Versuchsimpfungen.
Die Virussuspension bewirkte nach intratrachealer und intramuskulärer Inokulation bei 2 bzw. 6 2-20 Tage alten Kälbern eine vorübergehende Temperaturerhöhung bis zu 40° C bei einem Kalb.

Bei 3 Kälbern konnte 3-7 Tage nach der Impfung Virus reisoliert werden (aus Nasensekret und Fäzes).
Die Antikörpertiter stiegen nach zweimaliger i.m. Boosterimpfung bis auf Werte von 1:32 an.
Nach der i.m. Impfung von 15 trächtigen Kühen konnten weder bei den Impflingen noch bei den später geborenen Kälbern Anzeichen einer Impferkrankung bzw. einer stattgehabten Infektion nachgewiesen werden.
Dieser Impfstoff erwies sich als sicher und unschädlich, doch waren die damit erzielten Antikörpertiter gering.

2.3.4 Infektiöse bovine Rhinotracheitis-Infektiöse pustulöse Vulvovaginitis-Virus

Bei respiratorischen Erkrankungen von Rindern in den USA wurde 1956 ein Virus als Erreger isoliert.
Die Krankheit wurde Infektiöse bovine Rhinotracheitis, und der Erreger IBR-Virus genannt (196).
Später stellte sich heraus, daß der Erreger der IBR verschiedene Manifestationsmöglichkeiten einer Erkrankung zeigen kann (284,52, 386,241,328,218,18,155,157,227,217):

1. respiratorische Form,
2. konjunktivale Form,
3. genitale Form: Bläschenausschlag beim weiblichen Rind (IPV)+),
   Bläschenausschlag beim männlichen Rind (IPB)++),
4. Abortform, und
5. enzephalomyelitische Form.

Heute wird die Erkrankung übereinstimmend als Infektiöse bovine Rhinotracheitis-Infektiöse pustulöse Vulvovaginitis bezeichnet.
Im anglo-amerikanischen Sprachraum wird aufgrund des vermehrt auftretenden respiratorischen Erkrankungsbildes die kürzere Bezeichnung "Infektiöse bovine Rhinotracheitis" bevorzugt.

+) Infektiöse pustulöse Vulvovaginitis
++) Infektiöse pustulöse Balanoposthitis

Eine Beteiligung von IBR-Virus bei der Entstehung der Rindergrippe konnte von Wizigmann (369) in umfangreichen Versuchen nicht festgestellt werden.

2.3.4.1 Antikörper und Immunität

Nach natürlicher oder experimenteller Infektion mit IBR-IPV-Virus bildet das Rind:
- neutralisierende Antikörper (N-Ak) und
- komplementbindende Antikörper (Kb-Ak) (221,285,383,Zit. nach 330).

2.3.4.1.1 Neutralisierende Antikörper

Neutralisierende Antikörper gegenüber IBR-IPV-Virus erscheinen 10-14 Tage nach der Infektion. Maximale Titer werden in der Regel zwischen der 3. und der 4. Woche beobachtet, sie übersteigen Werte von 1:128 bis 1:256 selten (246). In der Mehrzahl liegen die Titer zwischen 1:8 und 1:64 (383).
Über ihre Persistenz liegen unterschiedliche Ergebnisse vor (149, 284,54,330). 10 bis 13 Monate nach der Infektion konnten von Rosner (284) noch geringe Serumantikörper nachgewiesen werden, während nach Chow (54) die Immunität bei Färsen nach einfacher intratrachealer oder intranasaler Inokulation von IBR-Virus 5 1/2 Jahre beträgt. Die Immunitätsschwelle setzte er mit $10^{-2,4}$ fest.
Nach York (386) und Casselberry (50) scheint jeder nachweisbare Serumantikörpertiter das Tier gegen eine intranasale Infektion zu schützen.
Der Nachweis neutralisierender Serumantikörper hat sich allgemein als serologische Nachweismethode des Immunstatus eines Tieres gegenüber IBR-IPV-Virus durchgesetzt.

2.3.4.1.2 Komplementbindende Antikörper

Über die Kinetik komplementbindender Antikörper gegen IBR-IPV-Virus ist beim Rind nichts näheres bekannt.

2.3.4.1.3 Kolostralimmunität

Antikörper gegenüber IBR-IPV-Virus werden über das Kolostrum auf das neugeborene Kalb übertragen (332).
Straub stellte in entsprechenden Untersuchungen fest, daß 1 000 ml Kolostrum innerhalb 12 Std. nach der Geburt dem Kalb verabreicht, genügen, um die Serumantikörper im Kalb auf Werte ansteigen zu lassen, die denen des Muttertieres entsprechen (329).
Antikörpertiter von 1:16 und größer scheinen das Kalb gegen eine Infektion zu schützen (135).
Diese maternalen Antikörper verbleiben im Kalb bis zu 4-5 Monate. Nach Plimpton (263) sinkt der Titer der Kolostral-Ak nach Überschreiten der maximalen Konzentration im Serum um 0,011 log/Tag.

2.3.4.2 Impfstoffe gegen die IBR-IPV-Infektion

In den USA wurden seit 1956 verschiedene Impfstoffe gegen die IBR entwickelt (53). 1957 kam der erste in den Handel (37).
In der BRD ist lediglich ein Kombinationsimpfstoff auf dem Markt, der inaktiviertes IBR-Virus als Komponente enthält.

2.3.4.2.1 Impfstoffe aus inaktivierten Erregern

Inaktiviertes IBR-Virus kam sowohl als monospezifische Vakzine (387,308,223) als auch in Verbindung mit inaktiviertem PI-3 Virus, Reovirus Serotyp 1, BAV 3- und BVD-MD-Virus (73), inaktiviertem PI-3-Virus (159,294,293,205) und inaktiviertem PI-3- und BVD-MD-Virus (175,174) in Kombinationsimpfstoffen zur Anwendung.

2.3.4.2.1.1 Herstellung der Impfstoffe

Die Inaktivierung von -in ENK- und KH-Zellkulturen gezüchtetem- IBR-Virus erfolgte in der Regel mit Formalin (387,223,205,175,174). Adjuvantien wie Aluminium-Hydroxyl-Gel (223) und Freund'sches Adjuvans in monospezifischen-, sowie Sodiumalginat (175,174) und,

soweit es sich um kommerzielle Kombinationsimpfstoffe handelte, nicht näher bezeichnete Adjuvantien, wurden zur Wirkungssteigerung der Impfstoffe angewandt.

2.3.4.2.1.2 Wirksamkeitsbestimmung im Rind

Die antikörperstimulierende Wirkung von IBR-Impfstoffen aus inaktivierten Erregern wurde von Zuschek und Chow (387) und Meszaros (223) untersucht.
Bei seronegativen Impflingen wurden teilweise starke Ak-Titeranstiege beobachtet. Tiere, die vor der Impfung bereits positive Ak-Titer besaßen, reagierten auf die Impfung entweder mit geringem Anstieg der Ak-Titer oder, in der Mehrzahl der Fälle, mit einem Rückgang der Antikörper.
Die Impfung mit Impfstoffen gegen die IBR-Infektion gewährte gegen eine Testinfektion ausreichenden Schutz (387).

Bei Impfungen mit Kombinationsimpfstoffen mit einer IBR-Komponente wurden, zusammengefaßt, folgende Ergebnisse gewonnen:
- kommerzielle- und Versuchsimpfstoffe bewirkten in der Regel eine zufriedenstellende Antikörperbildung (174,175,293,73,205), dennoch konnte selbst nach 2maliger Impfung bei einigen Impflingen kein weiterer Titeranstieg beobachtet werden (294),
- mindestens 2 Impfungen waren notwendig, um die Impflinge vor einer Testinfektion zu schützen (205),
- Adjuvanszusätze in den Impfstoffen steigerten die Ak-Bildung (175),
- bei der Impfung von Kühen wurde die Trächtigkeit nicht beeinflußt, und durch die Vermittlung von entsprechenden Antikörpern im Kolostrum auf das Kalb konnte die Kälbersterblichkeit drastisch gesenkt werden (174).

Impfstoffe, bestehend aus inaktivierten Erregern der IBR-IPV haben drei entscheidende Nachteile:
die Immunität entwickelt sich nach der Impfung langsamer und wird schneller wieder abgebaut als nach der Impfung mit Lebendvakzinen. Außerdem werden geringere Ak-Mengen gebildet (14,387).

2.3.4.2.2 Impfstoffe aus attenuierten, vermehrungsfähigen Erregern

Die Herstellung von IBR-Impfstoffen aus attenuierten Erregern erfolgte erstmals 1956 in den USA. Seither wurde die Wirksamkeit verschiedener Versuchsimpfstoffe und kommerzieller Impfstoffe mehrfach untersucht (154,305,384,306,36,387,216,193,221,348,331, 330,332,153,334,382,152,81,274,37,16,308).
In gleichem Maße wurde die Entwicklung von Kombinationsimpfstoffen mit einer IBR-Komponente und entsprechende Wirksamkeitsbestimmungen durchgeführt (63,111,21,297,151,179,263,146,143,178,20,185,8,92,230).

2.3.4.2.2.1 Herstellung der Impfstoffe

Die Züchtung und Attenuierung von Virusmaterial für die Impfstoffherstellung erfolgt in der Regel in homologen (ENK) Zellkulturen (382,154,384,305,8).
Adaptationsversuche von IBR-Virus an HeLa-Zellen wurden ebenfalls erwähnt (46).
Attenuierung von IBR-Virus durch Passagen in Kaninchennierenzellkulturen (RKTC) wurde von Todd et al. (348) und Zuschek und Chow (387) beschrieben.
Impfvirusblindpassagen in Hühnerembryonen, Meerschweinchen und Mäusen wurden von Brown und Chow (36) durchgeführt, um eventuelle Virulenzsteigerungen feststellen zu können.
Schwarz et al. (306) adaptierten IBR-Virus in Schweinenierenzellkulturen (PKTC). Nach i.n. Verimpfung der 10. PKTC-Passage erkrankten die Rinder spezifisch an IBR. Erst nach 60 Passagen war das IBR-Virus soweit abgeschwächt, daß es nach i.n. Verimpfung nur noch Nasenausfluß bewirkte, jedoch lediglich nach i.m. Verimpfung die Bildung von Antikörpern hervorrief.
Von der 100. Passage (PKTC) vermochte die i.n. Inokulation von 320 Mio. KID_{50} keine Krankheit mehr auslösen, jedoch konnte danach auch keine Ak-Bildung im Impfling festgestellt werden.

Damit wurde das Hauptproblem bei der Attenuierung von IBR-Virus umrissen: mit zunehmender Abschwächung des Impfvirus sinkt die Immunogenität.

40 schnelle Passagen von IBR-Virus in ENK-Zellkulturen führten schließlich zu einem Impfstoff, der nach i.m. Verimpfung in Kälber keine Erkrankung bewirkte, die Impflinge aber zur Bildung spezifischer Antikörper anregte und sie außerdem vor einer Testinfektion schützte (305).

Bei der Entwicklung eines IBR-IPV-Lebendimpfstoffes in der BRD (330) mit 2 Bläschausschlagvirusfeldstämmen (TÜ-1 W und TÜ-3 S) und dem amerikanischen IBR-Stamm LA wurde die Attenuierung des Virus in primären ENK-Zellkulturen durchgeführt. Nach i.m. Verimpfung der 100. Passage aller 3 Stämme bzw. der 200. Passage des LA-Stammes erkrankten die Impflinge fieberhaft an Bläschenausschlag bzw. an Rhinitis.
Das Inokulum stimulierte die Bildung hoher Serumantikörpertiter. Nach der 300. Passage bewirkte das Inokulum weder eine klinische Erkrankung noch eine Bildung spezifischer Antikörper.
Der geeignetste Abschwächungsgrad wurde somit zwischen der 200. und der 300. ENK-Zellkulturpassage angenommen (330).

Bei der Impfung von Milchvieh erwies sich die Verhinderung des abortauslösenden Effekts einer IBR-Impfung als die größte Schwierigkeit (284).
Aufgeschreckt durch die hohe Abortrate (17 %) in einer geimpften Milchviehherde (216) mußte die Abschwächung der Virulenz des Impfvirus derart erhöht werden, daß IBR-Lebendimpfstoffe auch bei trächtigen Rindern und Kühen risikolos angewandt werden konnten (334,330).

2.3.4.2.2.2 Standardbedingungen bei der Impfstofflizensierung

1964 wurden in den USA von der "Veterinary Biologics Division (ARS, USDA)" in Zusammenarbeit mit den Impfstoffherstellern Vorschriften ausgearbeitet, die Standardforderungen bezüglich der Reinheit, der Unschädlichkeit und der Wirksamkeit von Impfstoffen (biologic products) beinhalten (238,239,219,187,186,342, 261,260,101).

Die Reinheit (187,342) des Endprodukts definiert das relative Freisein von fremden Mikroorganismen sowie organischem und anorganischem Fremdmaterial.
Fremdvirus in Impfstoffchargen und (tumorfreien) Zellkulturen wird mittels Nachweis eines zytopathogenen Effekts in Zellkulturen (Inkubationszeit 14 Tage), nichtzytopathogenes BVD-MD-Virus fluoreszenzserologisch und durch Interferenzmethoden nachgewiesen.
Nach Verimpfen von 5 Proben einer Impfstoffcharge auf geeignete Nährböden (brain heart infusion agar) dürfen nach entsprechender Inkubation (4-6 Tage, 35-37^{0} C) nicht mehr als 100 Kolonien auf einer Platte gezählt werden, beim Nachweis von Brucella abortus-Keimen (Tryptoseagarplatten, 10 % CO_2, Inkubat. 7 Tage) wird die gesamte Charge verworfen.
Das Vorhandensein weiterer Fremdpathogene wird durch Inokulation von 0,3 ml Impfstoff (intracerebral) bzw. 0,5 ml (i.p.) in jeweils 8 Mäuse geprüft.
Innerhalb der 7tägigen Beobachtungszeit müssen mindestens 7 Mäuse jeder Gruppe gesund bleiben.
Mindestens 2 Meerschweinchen (350-400 g) werden i.p. oder s.c. mit 2 ml Impfstoff geimpft.
Innerhalb von 10 Tagen post vakz. dürfen die Tiere keine Anzeichen einer lokalen oder allgemeinen Reaktion zeigen.

Die Unschädlichkeit eines Impfstoffes beinhaltet:
- das Freisein von Eigenschaften, die nach der Anwendung des Impfstoffes entsprechend den Herstellerangaben übermäßige lokale oder allgemeine Reaktionen im Impfling hervorrufen,
- einen bestimmten Attenuierungsgrad des Impfvirus, sodaß es nach Inokulation in Mengen, die die vorgeschriebene Dosis überschreiten, im Impfling keine Krankheit auslöst, und
  das Fehlen einer möglichen Virulenzsteigerung nach Rückpassagen des Impfvirus (186).

Die Unschädlichkeitsprüfung erfogt in empfänglichen Kälbern.
Die Chargen des zu prüfenden Impfstoffes werden jeweils 2 Kälbern i.m., i.v. und intratracheal in der empfohlenen Dosis verimpft.
Bei den Tieren dürfen weder Fieber noch irgendwelche Anzeichen einer spezifischen Erkrankung beobachtet werden.

Die Wirksamkeit eines Impfstoffes wird im englischen Sprachraum in "potency" und "efficacy" ausgedrückt (187).

"Potency" ist die relative Wirkung eines biologischen Produkts, die mittels Labormethoden gemessen werden kann.
Bei IBR-Lebendimpfstoffen wird als Mindestinfektiositätstiter $10^{4,2}$ KID_{50} pro Dosis festgesetzt.
Bei dieser Festsetzung des Wertes wurde davon ausgegangen, daß die MPD (minimum protective dose) $10^{2,3}$ KID_{50} beträgt, und der Impfstoff, wenn er auf den Markt kommt, einen um $10^{1,2}$ höheren Infektiositätstiter als die "effective dose" besitzen, und beim Verfallsdatum der Titer $10^{0,7}$ KID_{50} über der "effective dose" liegen soll.
Der letzere Wert liegt jedoch nur 0,2 log über dem Standardfehlerwert von 0,5 log.
Durch beschleunigtes Altern der Impfstoffe können "potency tests" in kurzer Zeit durchgeführt werden.

"Efficacy" bezeichnet die spezifische Fähigkeit eines biologischen Produkts, nach Anwendung laut Herstellerangaben den Effekt zu erzielen, für den es angeboten wird.
Es wird angenommen, daß ein Impfstoff dann unter Feldbedingungen den meisten Tieren adäquaten Schutz verleiht, wenn jede Dosis 10fach stärkere immunogene Wirksamkeit besitzt, als notwendig ist, um 19 von 20 (95 %) Impflingen gegen eine Testinfektion zu schützen, die in 4 von 5 (80 %) ungeimpften Kontrolltieren eine Erkrankung bewirkt.

Die Wirksamkeitsprüfung von Impfstoffen wird in Feldversuchen unter Einbeziehung von mehr als 500 Kälbern als Impflinge durchgeführt. Die Tiere werden nach der Impfung klinisch beobachtet, und ihre prä- und postvakzinalen Serumproben auf spezifisch gebildete Antikörper untersucht (260).

2.3.4.2.2.3 Wirksamkeitsbestimmung im Rind

Die Wirksamkeit von IBR-Lebendimpfstoffen bei Rindern wurde gemessen:

- an der Bildung postvakzinaler Serumantikörpertiter (154,305,306,

387,193,221,348,331,223,330,153,382,111,21,297,179,263),
- an der Bildung postvakzinaler Nasensekretantikörpertiter (151, 330),
- an der Erkrankungsrate vakzinierter Tiere nach einer Testinfektion (154,305,306,36,387,71,348,330,382,178,111,8),
- am Rückgang entero-pulmonärer Viruserkankungen (63),
- am Sinken des Besamungsindex (334),
- an der Verringerung der Zwischenkalbezeit (334),
- an der Reduzierung der Sterilitätsbehandlungen (334) und
- am Ansteigen der Milchproduktion (334).

Die ersten 3 Parameter stellen dabei die wichtigsten dar und geben einen zuverlässigen Hinweis auf die durch die Impfung hervorgerufene Immunität.
Als weiterer Vorteil bei der Anwendung von IBR-Lebendimpfstoffen wird die Interferonproduktion im Impfling genannt (349,5).

In den USA werden heute 2 Arten von IBR-Lebendimpfstoffen kommerziell hergestellt:

1. IBR-Lebendvakzine für intranasalen Gebrauch.
   Diese Vakzine kann sicher bei trächtigen Tieren eingesetzt werden und schützt den Impfling ab 48 bis 72 Std. nach der Impfung (348,349). Eine Notimpfung im Inkubationsstadium ist möglich.
2. IBR-Lebendvakzine für intramuskulären Gebrauch.
   Diese Vakzine kann bei trächtigen Kühen Aborte hervorrufen (295).

Beide Impfstoffe unterscheiden sich bezüglich ihrer Immunogenität nicht signifikant (221).

Straub et al. (331) zeigten anhand von Impfversuchen in Besamungsstationen, daß IBR-IPV-Lebendimpfstoffe auch zur Bekämpfung des Bläschausschlages geeignet sind.

Ergebnisse von Impfungen mit IBR-IPV-Impfstoffen sind in den Tabellen 3 (monospezifische-), 5 und 6 (Kombinationsimpfstoffe mit einer IBR-IPV-Komponente) zusammengefaßt.

Tabelle 3 Impfungen mit IBR-IPV-Impfstoffen

Autor u. Jahr d.Veröffentl.	Lit. Nr.	Virus, Impfstoff	Impfungen	Impfdaten	Messung des Impferfolgs	Bemerkungen
York et al. 1956	382	IBR (mlv)+)	21 Rinder	1 ml i.m.	Ak-Titer	Alle vakz. Tiere entwickelten Ak
					Testinfektion	Vakz. Tiere geg. T.I. geschützt
						Niedrige Passagen d. Impfvirus bewirkten Fieber u. Verschlechterung des Allgemeinbefindens
Kendrick et al. 1956	154	IBR (mlv)	20 seroneg. Rinder 22 Kontr.	20 Tiere 2 ml i.m.	Ak-Titer	23 Tage post vakz.: 1:3 - 1:50
					Testinfektion	Kein Fieberanstieg bei vakz. Tieren, Infekt. bei Kontr.
Schwarz et al. 1957	305	IBR (mlv)	seroneg. Rinder, über 4 Mon.	i.m.	Ak-Titer	2-3 Wo. post vakz.: 1:9 - 1:38
					Testinfektion	keine Erkrankung nach der T.I.
			18 Kälber	i.m.		MID (minimum immunizing dose) $10^{3,7}$ KID_{50}
			30 seron. Rinder, 35 Kontr.	2 ml i.m. 50 000 KID_{50}	Testinfektion	1 vakz. Tier zeigte leichtes Fieber 33 Kontr. erkrankten nach T.I.
			3 Milchkühe 2 Kontr.	2 ml i.m.	Ak-Titer	Antikörperanstieg, Keine Erkrankg. nach Vakz. Kein Rückgg. d.Milchprod.
			6 Kälber	2 ml i.m.	Ak-Titer	2 Tiere bildeten Ak, 2 Tiere erkrankten leicht nach d. Vakz.
York et al. 1958	384	IBR (mlv)	3 345 Rinder 3 371 Kontr.	2 ml i.m.	Erkrankg nach der Impfg.	1 % der vakz. erkrankten an IBR 17,2 % d. Kontr. erkrankten an IBR
Schwarz et al. 1958	306	IBR (mlv)	13 Rinder	1-2 ml i.m. bzw. i.n.	Ak-Titer	Ak-Bildung: 1:3 - 1:11 -"- : bei 1 von 4 i.n. Vakz.
					Testinfektion	Keine Erkrankung nach der T.I.
Brown et al. 1959	36	IBR (mlv)	10 Rinder 20 Kontr.		Testinfektion	Vakz.T.: leichtes Fieber bei 3 T. 16 Kontr. erkrankten an IBR

+) mlv:"modified live virus vaccine"

Tabelle 3 (Forts.)

Autor u. Jahr d.Veröffentl.	Lit. Nr.	Virus, Impfstoff	Impfungen	Impfdaten	Messung des Impferfolgs	Bemerkungen
Zuschek et al. 1961	387	Formalin-inakt.-IBR-Virus	10 seroneg. Rinder		Ak-Titer	2 Wo.post vakz.: 1:4 - 1:108
		IBR (mlv)	10 seroneg. Rinder 20 Kontr.		Ak-Titer	IBR-mlv bewirkte 3fach höhere Ak-Titer als inakt. IBR-Virus
					Testinfektion	15 von 20 Kontr. erkrankten an IBR
McFeely et al. 1968	216	IBR (mlv)	208 Kühe, davon 119 trächtig	i.m.		Nach der Vakz. Rückgang der Milchleistung. 20 Kühe abortierten innerhalb 3 1/2 Mon. post vakz.
Lutz et al. 1968	193	IBR (mlv)	53 Kälber 38 Kontr.	2 x vakz. 3-4 Wo. Abstand	Ak-Titer	18 von 22 untersuchten Kälbern entwickelten Antikörper
McKercher et al. 1971	221	IBR (mlv)	8 seroneg. Kälber	i.n. vakz.	Ak-Titer	Ak-Titer nach i.n. u. i.m. Impfung nicht signifikant unterschiedlich, Bildung sekret. Ak nach i.n. Impfg. gering.
			8 -"-	i.m. vakz.		
			9 Kontr.			
					Testinfektion	i.m. vakz. T. erkrankten leicht (respiratorische Symptome, Kontr. erkrankten an IBR
Todd et al. 1971	348	IBR (mlv)	16 seroneg. Kälber 6-9 Mon. 12 Kontr.	i.n.	Ak-Titer	Ak ab 10. Tag post vakz. nachweisbar Anstieg bis 1:56
					Testinfektion	Ab 40 - 72 Std. post vakz. waren die vakz. Kälber gegen eine T.I. geschützt
					Interferon-nachweis	72 Std. post vakz. war bei allen vakz. Kälbern im Nasensekret Interferon nachweisbar

Tabelle 3 (Forts.)

Autor u. Jahr d.Veröffentl.	Lit. Nr.	Virus, Impfstoff	Impfungen	Impfdaten	Messung des Impferfolgs	Bemerkungen
Straub et al. 1971	331	IBR-IPV (mlv)	53-58 Bullen	2 ml i.n. i.präput. u. 5 ml i.m. 2 x vakz. 6 Wo.Abst. Wiederholg. 1 J. danach	Ak-Titer	Ø Ak-Titer vor der Vakz.: $10^{-1,4}$ Ø -"- nach den Vakz.: $10^{-2,4}$ 28 Bullen zeigten nach der 1. Impfg. Hyperämie der Präputialschleimhaut und Schmerzempfindlichkeit
Meszaros 1971	223	Formalin-inakt.-IBR-Virus	375 Kälber u. Jungbullen 4 Wo.-16 Mon. 40 Kontr.		Ak-Titer	Anstieg der Serumantikörper bei den vakzinierten Tieren
Straub 1971	330	IBR-IPV (mlv)	Rinder	i.n. u. i.m. 2 x vakz.	Ak-Titer	4 Wo.nach 2. Impfg. Titeranstieg bis max. $10^{-1,37}$
					Testinfektion	bei 5 von 8 i.m. vakz. leichte Erkrkg.
Straub 1972	332	IBR-IPV (mlv)	280 Rinder	2 ml i.n. 2 ml i.vag.		Keine Erkrankung der vakz. Tiere
Kelling et al. 1973	153	IBR (mlv)	22 Kälber	s.c.bzw.i.m. 1 x u. 2 x vakz.	Ak-Titer	Ak-Bildung bei 87,5 % s.c. vakz. T. Ak-Bildung bei 47,8 % i.m. vakz. T.
Straub et al. 1973	334	IBR-IPV (mlv)	334 Rinder u. Milchkühe	2 x vakz. 4-8 Wo. Abstand, i.n. u. i.vagin.	Besamungs-index	1 Jahr später: von 2,0 auf 1,5 gesunken
					Zwischen-kalbezeit	-"- : Von 414,395 und 387 auf jeweils 379, 351 und 351 gesunken
					Sterilitäts-behandlungen	-"- : Von 270 auf 13 Tiere reduziert
					Milchprod.	-"- : Anstieg von 4 328 auf 5 443 kg
						Keine Aborte festgestellt

2.3.5 Bovine Virusdiarrhoe-Mucosal Disease

Bei der Identifizierung des Erregers einer übertragbaren Enteritis bei Rindern stießen Olafson und Rickard (243) 1947 auf ein Virus (BVD-Virus) und nannten die Krankheit "Virusdiarrhoe".
Gillespie et al. (162) isolierten aus einer Rindermilz ein zytopathogenes Virus, das bis heute als Referenzstamm Oregon C 24 V in der virologischen Diagnostik Verwendung findet.
Der Erreger eines von Ramsey und Chivers (269) 1953 bei Rindern beobachteten respiratorisch-enteritischen Syndroms wird später als identisch mit dem BVD-Virus erkannt (365,172,103).

Bei Infektionen von Rindern mit BVD-MD-Virus überwiegt die subklinische Form (198,338). Exogene und endogene Streßfaktoren sowie Sekundärinfektionen beeinflussen den Infektionsablauf (113).

2.3.5.1 Antikörper und Immunität

Eine BVD-MD-Infektion hinterläßt bei Rindern in der Regel eine solide und langdauernde Immunität (265). Diese kann durch den Nachweis spezifischer Antikörper im Serum der Tiere nachgewiesen werden. Es werden gebildet:

- neutralisierende Antikörper,
- präzipitierende Antikörper und
- komplementbindende Antikörper (55).

In einzelnen Fällen konnten jedoch Tiere beobachtet werden, die nach einer entsprechenden Infektion klinisch erkrankt waren, und dennoch keine spezifischen Antikörper bildeten (198,256,180).
Die Gründe dafür sind nicht völlig geklärt, jedoch sieht Malmquist (198) in immunologischer Toleranz bzw. der Erschöpfung kleiner Lymphozyten eine der Hauptursachen.

2.3.5.1.1 Neutralisierende Antikörper (N-Ak)

Neutralisierende AK erscheinen im Serum infizierter Tiere bereits 2 Wochen nach der Infektion. Die höchsten Ak-Titer werden 3-6 Wochen später beobachtet, sie bewegen sich hauptsächlich zwischen 1:8 und 1:1 024, können jedoch in einzelnen Fällen bis auf Werte von 1:10 000 ansteigen (207,198,14,289,345,213,261,361).
Selbst hohe Ak-Titer können über mehrere Monate aufrecht erhalten werden; 3 bis 5 Monate nach der Infektion fallen sie gewöhnlich wieder stetig ab (207,151,114,289), verbleiben aber bei einzelnen Tieren über ein Jahr in nachweisbaren Bereichen (147,289,19).

N-Ak-Titer von 1:4 bzw. 1:8 deuten auf einen früheren Kontakt des Tieres mit dem Virus hin (198,7,365,213,2607).
Die Ak-Schwelle, die gegen eine BVD-MD-Infektion schützt, wird mit 1:8 - 1:64 angegeben (256,19).
Simonyi et al. (314) stellten bei Hyperimmunserum-behandelten Kälbern fest, daß ein Tier dann gegen eine experimentelle Infektion geschützt war, wenn das Serum bei einer Verdünnung von 1:512 noch 1 000 bis 3 160 KID_{50} einer Virussuspension neutralisierten.
Lambert (182) konnte zeigen, daß vakzinierte Kälber ohne nachweisbare Serumantikörper gegen eine anschließende Testinfektion geschützt waren.
Der Nachweis neutralisierender Antikörper wird heute allgemein zur Bestimmung des Immunstatus eines Tieres angewandt (198,59,275).

2.3.5.1.2 Präzipitierende Antikörper (P-Ak)

Präzipitierende Antikörper gegenüber BVD-MD-Virus werden von Rindern innerhalb 3 Wochen post infectionem gebildet und persistieren über 4 Monate (351,189).
Ihre Bedeutung liegt weniger im Immunschutz, als vielmehr in der vergleichenden BVD-MD - Schweinepest - Diagnostik und für den Agar-Gel-Diffusionstest (66,35,359).

2.3.5.1.3 Komplementbindende Antikörper (Kb-Ak)

Die Bildung, Titerhöhe und Persistenz Kb-Ak korreliert mit der neutralisierender Antikörper (114).
Beide Ak-Arten erscheinen etwa zur gleichen Zeit im Serum, jedoch können Kb-Ak in der Regel früher nachgewiesen werden (289).
Für das Erkennen kurzzeitig zurückliegender Infektionen eignet sich deshalb die KBR in besonderem Maße.
Die höchsten Kb-Ak-Titer werden 4-8 Wochen nach der Infektion erreicht, 3 bis 4 Monate später fallen sie dann wieder gleichmäßig ab (289,55,114).

2.3.5.1.4 Kolostralimmunität

Antikörper gegenüber BVD-MD-Virus werden von der Kuh auf das Kalb mittels Kolostrum übertragen (33,160). Dabei bestimmen Menge des aufgenommenen Kolostrums und Zeitpunkt der Aufnahme ganz entscheidend den Grad und die Belastbarkeit der passiven Immunität (319,183).
Durch die Konzentrierung von Ak im Kolostrum steigen die Kolostralantikörpertiter bei Kälbern häufig über die Werte der Serum-Ak-Titer ihrer Mütter an (146).
Kolostralantikörper schützen das Kalb vor Infektionen, doch erwies sich ein Titer von 1:18 als nicht ausreichend, eine Infektion vollständig zu verhindern; Fieberanstieg und Leukopenie waren die untrüglichen Anzeichen einer stattgehabten Infektion (135,323).

Maternale Antikörper sind in der Regel bereits ca. 3 Monate post partum abgebaut. Bei Tieren mit hohen Ausgangstitern post partum verzögert sich der Rückgang, und Kolostralantikörper konnten noch über 9 Monate nach der Geburt nachgewiesen werden (361,160,263).

Plimpton (263) bezifferte das Absinken von maternalen Antikörpern bei Drillingskälbern mit 0,016 log/Tag bzw. bei 9 weiteren Kälbern mit 0,3136 log/Monat.

2.3.5.2 Impfstoffe gegen die BVD-MD-Infektion

Die Entwicklung der ersten Impfstoffe gegen die BVD-MD-Infektion erfolgte 1954 in den USA.
Seither wurden zahlreiche monospezifische- und Kombinationsimpfstoffe, bestehend aus inaktivierten und attenuierten, vermehrungsfähigen Erregern in den USA und Europa hergestellt und ihre Wirksamkeit und Unschädlichkeit im homologen Versuchtier untersucht.

Aufgrund der antigenen Verwandtschaft zwischen BVD-MD-Virus und Schweinepestvirus und der immunogenen Wirkung von BVD-MD-Impfstoffen im Schwein wurden auch Versuche unternommen, Schweine mit BVD-MD-Impfstoffen gegen Schweinepest zu immunisieren (341,188).

2.3.5.2.1 Impfstoffe aus inaktivierten Erregern

Die Entwicklung, Herstellung und die immunogene Wirksamkeit eines monospezifischen Impfstoffes auf der Basis inaktivierten BVD-MD-Virus wurde erstmals 1971 beschrieben (84,85).
Desgleichen wurden ab demselben Zeitraum Kombinationsimpfstoffe mit einer BVD-MD-Komponente Gegenstand entsprechender Untersuchungen (73,175,259,174,170).

2.3.5.2.1.1 Herstellung der Impfstoffe

Die Grundlage für die Herstellung der Impfstoffe bildeten die amerikanischen BVD-MD-Referenzstämme C 24 V und NADL.
Das in ENK- bzw. KH-Zellkulturen gezüchtete Virusmaterial wurde mit Formalin (175,298,174), Chloroform (84,85), BPL (85) oder Hitzeeinwirkung (170) inaktiviert.
Als Adjuvanszusätze dienten $Al(OH)_3$ (84,85,259), Sodiumalginat (175, 174), Kalziumglukonat (175) und in kommerziellen Kombinationsimpfstoffen entsprechende, nicht näher bezeichnete Adjuvantien bzw. Suspendierungshilfsmittel (73).

2.3.5.2.1.2 Wirksamkeitsbestimmung im Rind

Bei der Wirksamkeitsbemessung von inaktiviertem BVD-MD-Virus im Rind kann auf dieselben Parameter zurückgegriffen werden wie bei PI-3-Impfstoffen:
die klinische Beobachtung der Impflinge und unvakzinierter Kontrolltiere nach einer postvakzinalen Testinfektion (84,85) und der Nachweis der Antikörper-Titeranstiege (84,85,73,175,259,174,170) gaben, besonders im Zusammenhang untersucht, einen zuverlässigen und zufriedenstellenden Eindruck vom Immunstatus geimpfter Tiere (275, 84,85).
Ein von Frank et al. (88) nach Impfungen von Kälbern mit PI-3-Impfstoff aufgestellter Krankheitsindex wurde von Fernelius et al. (84,85) modifiziert und erweitert, um so die Wirksamkeit einer BVD-MD-Vakzine zu ermitteln. Die Impflinge wurden anschließend an eine Testinfektion über mehrere Tage klinisch untersucht, und die Summe der Tage hergestellt, an denen Temperaturerhöhung, Leukopenie, Enteritis, respiratorische Erkrankung (Nasenausfluß), zentralnervöse Depressionen, Anorexie, Lahmheit und Virusausscheidung festgestellt wurden.
Derartige Bewertungskriterien erhöhen die Aussagekraft einer Impfstoff-Wirksamkeitsbestimmung bedeutend, doch können subjektive Eindrücke und unspezifische (nichtvirale) Erkrankungen die Wertbemessung beeinflussen. Die Funktion einer Testinfektion wird dadurch immerhin optimal ausgenützt.

Postvakzinale Komplikationen nach der Impfung mit BVD-MD-Lebendimpfstoffen haben dazu geführt, die Entwicklung von Totimpfstoffen voranzutreiben. Sie bewirken zwar keine so hohen Ak-Titer wie Lebendimpfstoffe, und zweimalige Impfung erscheint unerläßlich, doch haben sie ihre gute antikörperstimulierende Wirksamkeit in zahlreichen Versuchen bewiesen (22,113).

2.3.5.2.2 Impfstoffe aus attenuierten, vermehrungsfähigen Erregern

Erste immunprophylaktische Maßnahmen gegen BVD-MD-Infektionen beim Rind wurden mit attenuierten, vermehrungsfähigen Erregern durchge-

führt. Anfänglichen Versuchen mit monospezifischen Impfstoffen folgte bald der Einsatz von Kombinationsvakzinen mit einer attenuierten BVD-MD-Virus-Komponente (9,385,58,148,363,19,319,115,33, 146,143,213,20,147,63,111,21,107,297,381,8,179,263).

In den USA werden heute jährlich etwa 10 Mio. Dosen BVD-MD-Lebendimpfstoff verimpft, davon ca. 40 % als monospezifische Vakzine (182).

2.3.5.2.2.1 Herstellung der Impfstoffe

Die Züchtung und Attenuierung von BVD-MD-Virus im heterologen Versuchtier wurde erstmals von Baker et al. (9) durchgeführt. Das in Kalb-Kaninchen - "Schaukelpassagen" an das Kaninchen adaptierte Virus verlor nach 75 weiteren Kaninchenpassagen seine Pathogenität für das Kalb, zeigte jedoch weiterhin genügend immunogene Wirksamkeit um entsprechend geimpfte Kälber vor einer Testinfektion zu schützen (385).
Für die Herstellung größerer Mengen von Impfstoff erwies sich die Attenuierung in homologen ENK- und KH-Zellkulturen (58,19,170,385, 213,315,341) oder heterologen Schweinenierenzellkulturen (PKTC) (197,115,84) als gut geeignet.
Ausgangsmaterial derartiger Versuche waren die BVD-MD-Stämme NY 1, Oregon C 24 V und NADL (182,341).
Adaptierungsversuche wurden von Baker et al. (9) in Meerschweinchen, Schwein, Hund, Katze, Ziege, Schaf und Maus erfolglos unternommen, jedoch sah Gutekunst (115) in der Adaptierung von BVD-MD-Virus in PKTC eine Möglichkeit, die Kontamination des Impfstoffes mit bovinen Krankheitserregern zu vermindern.

2.3.5.2.2.2 Standardbedingungen bei der Impfstofflizensierung

Reinheit, Unschädlichkeit und Wirksamkeit von BVD-MD-Lebendimpfstoffen müssen in den USA vom Hersteller untersucht und nachgewiesen werden, bevor sie in den Handel kommen. Die Einhaltung der von der "Veterinary Biologics Division (ARS, USDA)" festgesetzten Standardbedingungen (240,239) erstreckt sich, entsprechend den Lizensierungs-

erfordernissen bei IBR-Impfstoffen, über die gesamte Marktperiode. Der Mindestinfektiositätstiter des Impfstoffes muß $10^{4,0}$ KID_{50}/2 ml betragen und darf bis zum Verfallsdatum nicht unter $10^{3,5}$ KID_{50}/2 ml abfallen.
Als MPD (minimum protective dose) werden $10^{1,5}$ KID_{50} angesehen (261).

Die Wirksamkeitsprüfung wird in mindestens 500 Kälbern durchgeführt. Der Identitätsnachweis von BVD-MD-Impfstoffen erfolgt mit spezifischem Antiserum.
Zusätzlich wird auch die Feuchtigkeit von Impfstoffbehältern (gefriergetrocknete Vakzine) stichprobenartig untersucht (182,342,47,260, 240,261).

2.3.5.2.2.3 Wirksamkeitsbestimmung im Rind

Wie bei der Wirksamkeitsbestimmung früher beschriebener Impfstoffe erwies sich der Nachweis postvakzinal angestiegener Serumantikörpertiter in den Impflingen durch die Untersuchungen von Robson et al. (275) als zuverlässiges und sicheres Kriterium für die Wertbemessung von BVD-MD-Lebendimpfstoffen (385,58,148,360,319,115,33,84).

Entsprechende Untersuchungen nach Impfungen mit Kombinationsimpfstoffen mit einer BVD-MD-Komponente unterstützten diese Rückschlüsse (146,205,20,147,111,21,107,297,381,179,263).

Postvakzinale Testinfektionen (9,385,58,19), ein in diesem Zusammenhang aufgestellter Krankheitsindex (84) und die Beobachtung der Impflinge und ungeimpfter Kontrolltiere bezüglich ihrer Immunität gegenüber Feldvirusinfektionen (385) ergaben zusätzliche Hinweise auf den Immunstatus geimpfter Tiere und damit auch auf die Wirksamkeit einer Impfung gegen BVD-MD-Infektionen.

Die Anwendung von BVD-MD-Impfstoffen in überaus zahlreichen Feldversuchen in den USA (182) und in der BRD (213) bewiesen die Unschädlichkeit und die Wirksamkeit dieser Vakzinen.
Dennoch muß erwähnt werden, daß in den USA bald nach dem kommerziellen Vertrieb von BVD-MD-Lebendimpfstoffen im Jahre 1964 und dem sprunghaften Anstieg von Impfungen, bei einem Teil der Impflinge ein Syndrom beobachtet wurde, das dem klinischen Bild einer Feld-

virus-Infektion glich (285,256,86,51,274,93,252,38,220).

Die Ursache dafür wurde jedoch weniger im Impfvirus, als vielmehr in der Impfung subklinisch erkrankter Tiere bzw. der Impfung im Inkubationsstadium, einer zufälligen Kontamination der Vakzine oder einem Versagen des Immunmechanismus einiger Impflinge gesehen.

2.3.5.2.2.4 Wirksamkeitsbestimmung im heterologen Versuchstier

Wirksamkeitsbestimmungen von BVD-MD-Lebendimpfstoffen wurden von Kißling (170) in Kaninchen durchgeführt.
Nach zweimaliger Impfung mit einer attenuierten Zellkulturvakzine konnte ein Anstieg der Serum-Ak bis zu maximal 2^{-6} beobachtet werden.
Höhere Antikörpertiter wurden bei der Herstellung von Immunserum in Kaninchen nach mehrmaliger Inokulation von virulentem BVD-MD-Virus von Güneri (112) beschrieben.

Ergebnisse von Impfungen mit BVD-MD-Impfstoffen sind in den Tabellen 4 (monospezifische-), 5 und 6 (Kombinationsimpfstoffe mit einer BVD-MD-Komponente) zusammengefaßt.

Tabelle 4 Impfungen mit BVD-MD-Impfstoffen

Autor u. Jahr d.Veröffentl.	Lit. Nr.	Virus, Impfstoff	Impfungen	Impfdaten	Messung des Impferfolgs	Bemerkungen
Baker et al. 1954	9	VD (mlv)	Kälber und Kaninchen	10 %ige Milzsuspens. von infiz. Tier	Testinfektion	3 Kalb-Kanin.-schaukelpassagen, dann 75 Kanin-passagen: Attenuierg. begann ab der 30. Passage
Schipper 1958	298	BVD-MD inakt.Vakz	Rinder			Keine Bewertung der Wirksamkeit
York et al. 1960	385	VD-Kanin.-(mlv)	8 Rinder 6 Mon.- 2 J.	i.m. und s.c.	Testinfektion 4 Wo. p.vakz.	vakz. Tiere erkrankten nicht
		VD-Zellk.-(mlv)	9 Rinder 11 Kontr.			10 der 11 Kontr. erkrankten nach der T.I.
		VD-Kanin.-(mlv)	1 375 Rinder 1 130 Kontr.		Ak-Titer	signifik. Anstieg der Ak-Titer
		VD-Zellk.-(mlv)	945 Rinder 493 Kontr.		Erkrankungen nach der Vakz	9 von 112 vakz. und 67 von 265 Kontr. erkrankten in 2 von 22 Herden an BVD-MD
Coggins et al. 1961	58	BVD-MD (mlv)	5 seroneg. Kälber,4 Mon. 5 Kontr.	1 x vakz.	Ak-Titer Testinfektion	Ak-Anstieg bei allen 5 vakz. Tieren 5 Kontr. erkrankten nach T.I.
			118 Kälber 1-7 Mon. 106 Kontr.		Ak-Titer	von 66 seroneg. Tieren bildeten 64 Antikörper. 7 Kontr. bildeten Ak nach der Impfg
Kahrs 1966	148	BVD-MD (mlv)	105 Rinder 16 Kontr.	2 ml i.m. versch. Verdünnungsstufen einer Vakzine	Ak-Titer	Bestimmung der 95 % "antigenic dose" (Vakzinedosis, die bei 95 % der empfängl. Tiere eine Ak-Bildg. bewirkt = AD 95. AD 95:$10^{2,8}$ bzw. 630 KID_{50}/Tier

Tabelle 4 (Forts.)

Autor u. Jahr d.Veröffentl.	Lit. Nr.	Virus, Impfstoff	Impfungen	Impfdaten	Messung des Impferfolgs	Bemerkungen
Wellemans et al. 1966	363	BVD-MD (mlv)				Keine Bewertung der Wirksamkeit
Bittle 1968	19	BVD-MD (mlv)	15 Rinder 6 Mon.- 2 J. 11 Kontr.	1 x vakz.	Testinfektion	10 von 11 Kontr. erkrankten nach der T.I.
			99 Rinder 53 Kontr.			Keine Impfvirus-Infektion bei den Kontrolltieren
			1 091 Rinder 1 162 Kontr.		Ak-Titer von 10 % d. Tiere	98 % der untersuchten seroneg. Tiere bildeten Antikörper
			82 seroneg. Rinder		Ak-Titer	Ø Anstieg der Ak in 21 Tagen: 1:480 (1:32 - 1:3 150)
Smith et al. 1968	319	BVD-MD (mlv)	58 Kälber 22-133 Tage mit pos. Ak-Titer	1 x vakz.	Ak-Titer	Hohe pass. Ak unterdrücken die Immunantwort. Entwicklung einer aktiven Immunität erst bei Kälbern möglich, die älter als 60 Tg.waren
Simonyi et al. 1968	315	BVD-MD (mlv)	41 Kälber 8 Kontr.	5 bzw.10 ml i.m.,10 ml i.v., 20 ml oral, 2 x vakz., 3 Wo. Abstand	Testinfektion 11 Wo. p.vakz.	Milde Erkrankung bei vakz. Tieren
					18 Wo. p.vakz.	vakz. T. erkrankten ebenso wie Kontr.
					Ak-Titer	nach der 2.Vakz.: 1:8 - 1:128
			699 Kälber 242 Kontr.	5 ml i.m. 2.Vakz.:2 ml		Morb. u. Mort. bei vakz. Tieren geringer als bei Kontr.
					Gewichtszunahme	bei vakz. T. größer als bei Kontr.
Gutekunst 1968	115	BVD-MD (mlv)	Rinder		Ak-Titer	Ak-Titer: maximaler Anstieg nach 6 Wochen
						50 KID_{50} bewirken signifik. Anstieg 99 % der vakz. T. bildeten Ak

Tabelle 4 (Forts.)

Autor u. Jahr d.Veröffentl.	Lit. Nr.	Virus, Impfstoff	Impfungen	Impfdaten	Messung des Impferfolgs	Bemerkungen
Bognar 1970	33	BVD-MD (mlv)	6 trächtige Kühe, 2 davon seroneg. 2 Kontr.	2 x vakz. 4 Wo Abstand	Ak-Titer in Serum u. Kolostrum	Ak-Anstieg,Serum: Von 0-1:410 auf 1:640-1:4 096 bei allen Impflingen Kolostrum-Ak: 1:4 096-1:13 926
					Ak-Titer der Kälber	Präkolostrale Ak bei 4 Kälbern: 1:160 - 1:870. Pos.prävakz.Ak-Titer d.Kühe verhinderten Übertritt von Impfvirus auf den Fetus.
Fernelius et al. 1971	84	Inakt. BVD-MD-Virus, lösliches Antigen	seroneg. Kälber Kontr.	2,5 bzw.5 ml 2 x vakz. 2-4 Wo.Abst.	Ak-Titer	hohe Ak-Titer (bis 1:16 000) über 6 Mon. nachweisbar
					Testinfektion	nicht alle vakz.T.geschützt. Kontr. erkrankten
						2,5 ml-Dosis schützt besser als 5ml 2 Impfungen besser als eine
		BVD-MD (mlv)		2,5 ml i.m. 2 x vakz. 2 Wo.Abstand	Ak-Titer Krankheitsindex +)	max. Ak-Anstieg auf 1:1 024
Fernelius et al. 1972	85	Inakt. BVD-MD-Virus	20 Kälber 2-6 Mon. 6 Kontr.	1 x bzw.2 x vakz., 2 bzw 4 Wo.Abstand	Ak-Titer	hohe Ak-Titer bei vakz. Tieren
					Testinfektion	vakz.T.besser geschützt als Kontr.
					Krankheitsindex +)	
		+) Krankheitsindex: nach Frank et al.(88) mod.: Summe der Tage mit Temperaturerhöhung + Leukopenie + Enteritis + resp. Erkrankung + zentralnervöse Depression + Anorexie + Lahmheit + Virusausscheidung nach einer Testinfektion.				
Kißling 1972	170	BVD-MD (mlv)	Kaninchen	1 ml s.c. 2.Vakz. nach 3 Wochen	Ak-Titer	Ak-Bildung nach der 2. Vakz.
			Meerschweinchen			Keine Ak-Bildung
			Hühner			Keine Ak-Bildung

2.4 KOMBINATIONSIMPFSTOFFE

Die Vielfalt der Erreger respiratorischer Erkrankungen bei Rindern erforderte neue Wege bei der Immunprophylaxe (3,313,168,98).
Durch den Einsatz von Kombinationsimpfstoffen, die entsprechend der epidemiographischen Erregerverbreitung zusammengestellt wurden, war die Möglichkeit gegeben, die Rinder gegen die bei respiratorisch-enteritischen Erkrankungen am haufigsten beteiligten Virusarten zu immunisieren (120,311,354,57,73,320,294,205,175,259,174,170,213, 293,146,143,178,20,185,147,63,111,21,107,297,151,381,170,8,179,263, 134,253).
Als solche können genannt werden:
Parainfluenza-3-Virus, Reovirus, Adenovirus, IBR-IPV-Virus und BVD-MD-Virus (327,165,237,344,131).
Die in der Literatur beschriebenen Kombinationsimpfstoffe, bestehend aus inaktivierten und attenuierten Erregern, enthalten diese Antigene in verschiedenen Zusammensetzungen. Bakterielle Antigenkomponenten wie Pasteurellen, Leptospiren und Bedsonien wurden teilweise zugesetzt (120,57,294,205,239,146,213,185,107,297,8,263).

Die Beschreibung der Herstellung und der Bestimmung ihrer Wirksamkeit erfolgte in den vorausgegangenen Kapiteln.
In Tabelle 5 und 6 wurden die Kombinationsimpfstoffe zusammengefaßt.

Tabelle 5 Kombinationsimpfstoffe mit inaktivierten Virusarten

Autor u. Jahr d.Veröffentl.	Lit. Nr.	Komponenten	Inaktivierung	Adjuvans und Stabilisator	Impfdaten	Messung des Impferfolgs	Bemerkungen
Hamdy et al. 1964	120	PI-3 IBR-(mlv)	Formalin	Mineralöl Arlacel A	12 Kälber 6-10 Mon. 3 x 5 ml i.m	Temp.-Streß Testinfekt.	vakz. Tiere 3fach besser geschützt als Kontrollen
Shefki et al. 1969	311	PI-3 BAV 3 Reo 1	BPL (β-propiolakton)	20 % Al-hydrogel	7 Kälber 6 Wo., 2 x 2 ml i.m. 3 Kontr.	Ak-Titer	zufriedenstellende Ak-Antwort, hohe Titer
		PI-3 BAV 3			24 Kälber 6-17 Wo. 2 x vakz. 24 Kontr.		Ak-Titer 106 Tage lang nachgewiesen
Tribe et al. 1969	354	PI-3	PCE (Perchloräthylen)	20 % $Al(OH)_3$ Paraffinöl Arlacel A Tween 80 Marcol 52	Meerschweinchen, Kontr.	HAH-Ak-Titer N-Ak-Titer	gleicher Titeranstieg bei monospez. und Kombinationsvakzine
		BAV 3	Formalin 1:10 000		17 Kälber kolostrumfrei, 8 Kontr.	Vergleich: 1x u.2x vakz. monospez. u. Kombinat.vakz	Öladjuvans-vakzine bewirkt stärkere PI-3-Ak-Antwort als Al-hydrogel-Vakzine
					6 Kälber 5 Kontr.	Komb.vakz. versch.Dosen	Öladjuvans-vakzine bewirkt hohe Titeranstiege d. Ak
Clegg et al. 1972	57	PI-3 BAV 3	inaktiviert	Öladjuvans	12 Kälber 2 Wo., 2x s.c vakziniert	Ak-Titer	signifikanter Anstieg d.Ak geg. BAV 3
		PI-3 BAV 3 Reo 1 "BVD-Faktor"			12 Kälber i.m. 24 Kontr.		signifikanter Anstieg d.Ak geg. PI-3, BAV 3 und Reo 1

Tabelle 5 (Forts.)

Autor u. Jahr d.Veröffentl.	Lit. Nr.	Komponenten	Inaktivierung	Adjuvans und Stabilisator	Impfdaten	Messung des Impferfolgs	Bemerkungen
Davidson et al. 1972	73	PI-3 Reo 1 BAV 3 IBR-IPV BVD-MD	inaktiviert	Suspendierungshilfsmittel	60 Kälber 6-8 Wo. 2x vakz. 4 Wo.Abst. Kontrollen	Ak-Titer	Ak-Anstieg gegenüber allen Komponenten
Soulebot et al. 1972	230	PI-3 Reo 1 BAV 3	BPL	Al - Gel Saponin	Mäuse 0,5 ml i.p.,Kontr. 8 Kälber 12 Mon.,2x vakz. s.c. 2 Kontr.	Ak-Titer	höhere Ak-Titer als entspr. vakz. Kälber sehr guter Ak-Anstieg maternale Ak vorhanden
Sampson et al. 1972	294	PI-3 IBR	inaktiviert		206 Rinder 1 Mon.-11 J. 2x 10 ml,2-3 Wo.Abstand, 94 Kontr.	Ak-Titer bei 187 vakz. und bei 94 Kontr.	Ø Ak-Anstieg geg. IBR: 0 → 12,89, geg.PI-3: 91,86→261,6 Bei 4 vakz. T. Schwellung an der Impfstelle
Matsuoka et al. 1972	205	PI-3 IBR	Formalin	Adjuvans	54 Rinder 2x 10 ml,i.m. 3 Wo.Abst. 17 Kontr.	Ak-Titer Testinfekt. mit IBR-Virus	guter Impferfolg vakz. Tiere immun geg. dem Inokulum, 2malige Impfung notwendig
Kolar et al. 1972	175	PI-3 IBR BVD-MD	Formalin 0,4 %	4 % Sodiumalginat, 0,67 % Kalziumglukonat	45 Rinder seronegativ, 2x vakz. 38 Tage Abstand	HAH- u. N-Ak-Titer	Vakzinierung mit Adjuvansvakzine bewirkte höhere Ak-Titer als Adjuvans-freie Vakzine

Tabelle 5 (Forts.)

Autor u. Jahr d.Veröffentl.	Lit. Nr.	Komponenten	Inaktivierung	Adjuvans und Stabilisator	Impfdaten	Messung des Impferfolgs	Bemerkungen
Phillip et al. 1973	259	PI-3 BAV 3	Tetrachlor-äthylen, Formalin	Öladjuvans	27 Kälber 2-3 Wo. 2x s.c.vakz. 27 Kontr.	Ak-Titer	Kein sign.Ak-Anstieg geg. PI-3, gleichmäßiger Ak-Anstieg geg.BAV 3
		PI-3 BAV 3 Reo 1 BVD-MD	inaktiviert	Al-hydroxid	27 Kälber 2-3 Wo. 2x i.m.vakz.		sign.Ak-Anstieg geg. PI-3, deutlicher Ak-Anstieg geg. Reo 1, gleichm.Anstieg geg.BAV Kein Ak-Anstieg geg.BVD
Kolar et al. 1973	174	PI-3 IBR BVD-MD	Formalin	Sodium-alginat	156 Rinder 2x vakz. 10 ml i.m. 130 Kontr.	Ak-Titer	starker Ak-Anstieg in Serum u. Kolostrum
						Rückgang d. Kälbersterblichkeit	von 40,7 % auf 0 % bzw. von 18,6 % auf 0 % gesunken
							Trächtigkeit nicht beeinflußt
Wizigmann 1974	374	PI-3 Reo 1 u.3 BAV 1, 3 und 5	Formalin	25 % Al-hydroxid, 0,0125 % Saponin	Feldversuche Rinder und Kälber, 2x vakz.5 ml s.c.	Rückgang d. Erkrankg. an Rindergrippe	sehr guter Impferfolg
Kißling 1972	170	PI-3 BVD-MD	Hitze-inaktivierg.	ohne	10 Kaninchen 2 ml s.c.	Ak-Titer	Keine Ak-Bildung festgestellt
Sampson et al. 1972	293	PI-3 IBR	inaktiviert		Feldversuche Rinder	Ak-Titer von 230 vakz.T. und 179 Kontr.	sign. Ak-Anstieg bei den vakz. Tieren geg. beiden Komponenten

Tabelle 6 Kombinationsimpfstoffe mit attenuierten Virusarten

Autor u. Jahr d.Veröffentl.	Lit. Nr.	Komponenten	Impfungen	Impfdaten	Messung des Impferfolgs	Bemerkungen
Baker et al. 1958	8	IBR BVD-MD	6 Kälber, seroneg. 6 Kontr.	2,5 ml	Testinfekt.	Vakz. Kälber geschützt gegen Testinfektion
Kahrs 1965	147	BVD-MD IBR PI-3	174 Kühe	i.m.	Ak-Titer	95 % d.vakz. Kühe bildeten Ak, 48 von 49 untersuchten Kühen waren 38 Mon. post vakz. geg. BVD-MD immun
Kahrs et al. 1965	146	PI-3 IBR BVD-MD	391 nicht-tragende Rinder 796 Kontr.	i.m.	Ak-Titer	5,7 bzw.17,6 % von 106 bzw. 227 Kontr. bildeten Ak geg. BVD, 43,2 % von 74 Kontr. bildeten Ak geg. IBR, 86,9 % bis 100 % der vakz.T.bildeten Ak geg. BVD, 6,25 bis 100 % der vakz.T.b.Ak geg IBR
					Klin.Beobachtung	BVD-Ag anfangs nicht völlig inakt., sign.weniger Retentio und Aborte, und weniger Septikämien bei Kälbern vakz.Kühe
Plimpton 1966	263	IBR BVD-MD	391 Rinder 796 Kontr.		Ak-Titer	Über 80 % d.vakz.T.waren bis zu 3 Jahre post vakz.immun, bei vakz.T.sign.weniger Aborte und Retentionen
Lambert et al. 1967	179	IBR BVD-MD	30 Kälber seroneg.	homoloc. Immunserum simult. inokuliert	Ak-Titer	prophyl.Dosis Immunserum verhindert die Ak-Bildung unwesentlich, therapeutische Dosis Immunserum interferiert mit der Ak-Bildung
Johnston et al. 1967	143	IBR BVD-MD	1 300 Rinder		Mortalität post vakz.	2,4 %
		IBR	1 095 Rinder			5,0 %
Mayr et al. 1968	213	PI-3 BVD-MD	47 Kälber 9 Kontr.	s.c.	Ak-Titer	Impferfolg abhängig vom Status der Kolostralimmunität
			557 Rinder Feldversuch			Notimpfung möglich, gute Verträglichkeit, Vakzine ist unschädlich u.wirksam

Tabelle 6 (Forts.)

Autor u. Jahr d.Veröffentl.	Lit. Nr.	Komponenten	Impfungen	Impfdaten	Messung des Impferfolgs	Bemerkungen
Kucera 1968	178	PI-3 IBR	Kälber seroneg.	2 ml,Boosterimpfg. beim Absetzen	HAH- und N-Ak-Titer	21 Tage nach der Vakz. nachweisbar
					Testinfekt.	bei vakz.T.: 4 Tage lang Virus isoliert bei Kontr.:7-8 - " -
Bittle et al. 1968	20	IBR BVD-MD	71 Rinder		N-Ak-Titer	Ak-Anstieg bei seroneg.Tieren: geg.IBR 1:4 - -1:16, geg.BVD-MD 1:20-1:10 000 Ak-Anstiege auch bei seropos.Tieren
Granston et al. 1968	111	PI-3 IBR BVD-MD	Kälber 5-7 Mon. seroneg.	i.v.,i.m. oral,i.tr. versch. Dosierg.	Ak-Titer	4 facher Ak-Anstieg geg.allen Antigenen
					Testinfekt.	bei 3 vakz. Kälbern Symptome resp.Erkrkg.
Larson et al. 1969	185	PI-3 IBR	30 Färsen		HAH- und N-Ak-Titer	Ak-Anstieg geg. PI-3, Ak-Anstieg geg. IBR,außer bei einem Tier
Coman 1969	63	PI-3 IBR BVD-MD	299 Kälber Kontr.	2x 2,5 ml s.c.u.i.m. 5 Tg.Abst.	Rückgang des CEPV +)	vakz.T.: 30 % → 18 %, Kontr.: 36 %→31 % +) complex entero pulmonary virus dis.
					Gewichtszunahme	nach 102 Tagen Ø 4,5 - 8,7 kg bei vakz. Tieren größer als bei Kontr.
Bittle 1970	21	PI-3 IBR BVD-MD	5 997 Rinder 6 581 Kontr.		Morbidität post vakz.	bei vakz. T. 5,9 %, bei Kontr. 16,4 %
					Ak-Titer	4-7facher Ak-Anstieg, Temperaturerhöhung bei kolostrumfreien Kälbern
Schell et al. 1972	297	PI-3 IBR BVD-MD	1 916 Rinder	2 ml i.m.	Ak-Titer von 958 Tieren	guter Impferfolg

Tabelle 6 (Forts.)

Autor u. Jahr d.Veröffentl.	Lit. Nr.	Komponenten	Impfungen	Impfdaten	Messung des Impferfolgs	Bemerkungen
Goedemans 1970	107	PI-3 BVD-MD	Mäuse	teilw.mit Adjuvans	Ak-Titer	Kein Adjuvanseffekt durch Pasteurella-Ag. Synerg.Effekt durch Past.-Ag und Al-hydroxid.
			24 Kälber 5 Tg.alt 24 Kontr.	2x s.c. vakz.,5-6 Wo.Abst.		schwache Immunantwort geg. PI-3, signifikanter Ak-Anstieg geg. BVD-MD
			104 Kälber 60 Kontr.	2.Vakz. nach 7 Wo.		
			6 neugeb. Kälber 2 Kontr.	1x vakz. i.n.	Ak-Titer in Serum und Nasensekret	mat. Ak interferieren mit Ak-Bildung im Nasensekret
			29 Kälber	1x vakz.in	Ak-Titer	Ak Titer nicht höher als nach i.n.Impfg.
Kißling 1972	170	PI-3 BVD-MD	Kaninchen	2 ml s.c. 2.Vakz. 3 Wo.später	Ak-Titer	Ak-Titer nach 2. Impfg. PI-3: bis 1:32 BVD-MD: bis 4,75 ($-\log_2$)
Woods et al. 1973	381	PI-3 BVD-MD	109 Kälber 4-8 Mon. 55 Kontr.	i.n. i.m. 2.Vakz. beim Absetzen	HAH- und N-Ak-Titer	vakz.T.: 61 % erkrankt an ARTD +) Kontr.: 49 % erkrankt an ARTD Rückgang der Erkrankungen nach der 2. Impfg. +) acute respiratory tract disesae
Kahrs et al. 1973	151	PI-3 IBR	371 Rinder	1 ml i.n.	Ak-Titer	21 von 22 seroneg.T.: Ak-Anstieg geg. PI-3, 99,6 % der vakz. T. zeigten Ak-Anstieg geg. IBR.
					klinische Beobachtung	1,4 % der vakz. Tiere abortierten, Ein Teil der vakz. Tiere zeigte Fieber und starken Nasenausfluß

3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.1 MATERIAL UND METHODEN

3.1.1 Zellkulturen

Für die Untersuchungen wurden folgende Zellkulturen verwendet:

1. permanente Kulturen aus Verozellen (African green monkey kidney cell line),
2. fetale Kälberhodenparenchymzellen (fet.KH), und
3. fetale Kälbernierenepithelzellen (fet.ENK).

Die fetalen KH- und ENK-Zellen wurden in primärer, sekundärer und tertiärer Passage verwendet.

Verozellen sind durch Ablösen dichter Kulturen mit 0,02 %iger Versenlösung gewonnen und nach Suspendierung in Anzuchtmedium in Roux-Schalen (100 ml Anzuchtmedium) bzw. Rollerflaschen (150 ml Anzuchtmedium) vermehrt worden.
Das Anzuchtmedium bestand aus:

77,4 % Hanks'scher Lösung
10 % fetalem Kälberserum
10 % hydrolisiertem Laktalbumin (5 %ige Lösung)
2 % Phenolrot (0,1 %ige Lösung)
0,6 % $NaHCO_3$-Lösung (10 %ig)
Antibiotika (200 I.E. Penicillin und 200 γ Dihydrostreptomycin/ml).

Als Erhaltungsmedium diente das Leibowitz-Medium Nr. 15 mit der üblichen Antibiotikazugabe.

Bei ENK- und KH-Zellen hat sich die Anzüchtung in Roux-Schalen oder Vierkantflaschen und anschließende Verwendung der sekundären Zellen als Methode der Wahl erwiesen.
Die Gewinnung der Kulturzellen erfolgte nach den bekannten Methoden der fraktionierten Trypsinandauung (112).
Das Anzuchtmedium für ENK- und KH-Zellen bestand aus:

78 % Earle'scher Lösung
10 % fetalem Kälberserum

10 % hydrolysiertem Laktalbumin (5 %ige Lösung)
2 % Phenolrot (0,1 %ige Lösung)
200 I.E. Penicillin und 200 γ Dihydrostreptomycin/ml.

Sobald die Zellen zu einem dichten Zellrasen ausgewachsen waren, wurde das Anzuchtmedium durch Erhaltungsmedium ersetzt.
Das Erhaltungsmedium bestand aus:
88 % Earle'scher Lösung
10 % Laktalbumin (s.o.)
2 % Phenolrot (s.o.)
200 I.E. Penicillin und 200 γ Dihydrostreptomycin/ml.

Von der Anzuchtmedium-Zellsuspension wurden jeweils 1,5 ml in Zellkulturröhrchen, und 100 ml in Roux-Schalen abgefüllt.
Für den Neutralisationstest im Mikrotiterverfahren wurden Suspensionensekundärer und tertiärer Zellen mit Konzentrationen von 500 000 Zellen/ml bei KH-Kulturen und 300 000 Zellen/ml bei ENK-Kulturen hergestellt.
Für die Teste sind sterile "Linbro"-Einwegplatten mit flachem Boden verwendet worden.

3.1.2 Virusstämme

Für die serologischen Untersuchungen sind folgende Virusarten und -Serotypen verwendet worden:

- Parainfluenza-3-Virus (PI-3-Virus),
- Reoviren des Menschen, Serotyp 1 (Reo 1), Serotyp 2 (Reo 2) und Serotyp 3 (Reo 3),
- Bovine Adenoviren, Serotyp 1 (BAV 1), Serotyp 3 (BAV 3) und Serotyp 5 (BAV 5),
- Virus der infektiösen bovinen Rhinotracheitis (IBR) und
- Virus der bovinen Virusdiarrhoe-Mucosal Disease (BVD-MD).

Einzelheiten über Bezeichnung, Passagenzahl, verwendete Zellkultursysteme, sowie Hämagglutinations- und Infektiositätstiter der Virusstämme sind in der Tabelle 7 zusammengefaßt.

Tabelle 7 Virusstämme für die Durchführung serologischer Untersuchungen

Virusart und -Serotyp	Virusstamm	Art und Zahl der Passagen	Hämagglutinationstiter(HA-Titer) bzw. Infektiositätstiter (KID_{50}/0,1 ml)
Parainfluenza-3-Virus	R 2 V	16.ENK	HA-Titer: 1:32
		17.ENK	-"- 1:16
Reovirus Serotyp 1	Lang	15.Vero	-"- 1:64
Reovirus Serotyp 2	Jones	12.Vero	-"- 1:64
Reovirus Serotyp 3	Dearing	15.Vero	-"- 1:32 Inf.-Titer: $10^{6,75}$
BAV, Serotyp 1	Nr.10	12.ENK u. 10.KH	Inf.-Titer: $10^{5,75}$
BAV, Serotyp 3	WBR 1	11.ENK	$10^{4,25}$
		12.ENK	$10^{3,0}$
BAV, Serotyp 5	293/3	15.KH	$10^{7,5}$
	B 4/65	89.KH	$10^{5,25}$
IBR-IPV-Virus	LA	34.ENK u. 2.KH	$10^{7,0}$ 10
		34.ENK u. 3.KH	$10^{7,25}$
BVD-MD-Virus	Oregon C 24 V	22.ENK u. 9.KH	$10^{5,25}$
	Dänemark Ug 59, P	6.ENK u. 20.KH	$10^{6,5}$

ENK: Kälbernierenzellkultur, KH: Kälberhodenzellkultur,
HA: Hämagglutination

3.1.3 Viruszüchtung und Gewinnung des Virusmaterials

Parainfluenza-3-Virus wurde in ENK-Zellkulturen in Roux-Schalen gezüchtet. Das Anzuchtmedium dichter Kulturen wurde abgesaugt, und der Zellrasen mit 10 ml unverdünnter, infektiöser Zellkulturflüssigkeit beimpft. Nach einer Inkubation bei Zimmertemperatur über 4 Stunden und dem anschließenden Absaugen des Inokulums wurden die Roux-Schalen mit jeweils 100 ml Erhaltungsmedium beschickt und bis zur Virusernte 3 Tage lang bei 37°C bebrütet. Die Bereitstellung von Testantigen erfolgte durch Einfrieren der infizierten Zellkulturen (bei -70° C), Wiederauftauen, anschließendem Zentrifugieren (10 min. bei ca. 1 500 g) und Abfüllen des Überstandes in Mengen von 2,0 ml. Dieses Antigenmaterial lagerte bis zur Verwendung bei -70° C.

Reovirus der Serotypen 1, 2 und 3 wurde in Vero-Zellkulturen in Rollerflaschen (Zellrasenfläche ca. 700 qcm, 50 ml EM) hergestellt. Nach dem Austauschen von AM durch EM wurden die dichten Kulturen mit 2 ml unverdünnter Virussuspension beimpft, bei 37° C bebrütet, und nach 80-90 %iger Zerstörung des Zellrasens bei -20° C eingefroren. Die Aufbereitung und Lagerung erfolgte analog der bei PI-3-Virus angewandten Methode.

Die Züchtung von Adenoviren der Serotypen 1 und 3 erfolgte in ENK-, die des Serotyp 5 in KH-Zellkulturen nach der bei Reovirus beschiebenen Methode. Das Antigenmaterial lagerte bis zur Weiterverwendung bei -20° C.

Virusdiarrhoe-Mucosal Disease-Virus und
Infektiöse bovine Rhinotracheitis-Virus wurde durch Züchtung in KH- bzw. ENK-Zellkulturen nach der bei PI-3-Virus beschriebenen Methode gewonnen.

3.1.4 Virustitrationen

3.1.4.1 Titration der Infektiosität

Die Virussuspensionen wurden mit Erhaltungsmedium in 10er Potenzen verdünnt und pro Verdünnungsstufe 4 Röhrchenkulturen mit jeweils

0,1 ml beimpft. Als negativ wurden Kulturen bewertet, deren Zellrasen während der anschließenden Bebrütung bei 37° C virusspezifisch degenerierten.
Die Berechnung der Infektiositätstiter erfolgte nach der Methode von Behrens/Kärber (145).

3.1.4.2 Titration des Hämagglutinins

Reovirus- und Parainfluenzavirus-Hämagglutinine sind im Mikrotiterverfahren (System Cooke, Flow Labs., Reaktionsmengen 0,025 ml) titriert worden. Das Virus wurde in Übertragplatten in 2er Potenzen verdünnt und auf V-Platten, in die eine 1 %ige Erythrozytensuspension vorgelegt worden war, übertragen. Nach Zugabe von 0,025 ml physiol. NaCl-Lösung zu den Reaktionsgemischen und leichtem Schütteln blieben die Platten bei Zimmertemperatur (Reoviren) bzw. bei 37° C (PI-3-Virus) stehen.
Die Ablesung der Ergebnisse erfolgte nach vollständiger Sedimentation der Erythrozyten in den parallel zum Test angesetzten NaCl-Erythrozytenkontrollen. Als Endtiter galt die höchste Antigenverdünnung, bei der noch eine vollständige Agglutination der Erythrozyten sichtbar war.

3.1.5 Impfstoffe

In die vergleichende Wirksamkeitsprüfung sind 3 verschiedene Impfstoffe einbezogen worden.

3.1.5.1 Impfstoff "RGV"

Beim Impfstoff "RGV" handelt es sich um einen Versuchsimpfstoff auf der Basis inaktivierter Virusarten, der für die Bekämpfung der Rindergrippe entwickelt wurde, und nicht im Handel erhältlich ist (372). Der Impfstoff hat folgende Zusammensetzung:

- PI-3-Virus $10^{7,6}$ KID_{50}/Dosis
- Reo 1-Virus $10^{7,8}$ KID_{50}/Dosis
- Reo 3-Virus $10^{7,7}$ KID_{50}/Dosis
- BAV 1 $10^{7,9}$ KID_{50}/Dosis
- BAV 3 $10^{6,1}$ KID_{50}/Dosis
- BAV 5 $10^{5,7}$ KID_{50}/Dosis

Außerdem sind darin enthalten:

- 25 % $Al(OH)_3$ (2 %ige Suspension),
- 0,0125 % Saponin.

3.1.5.2 Impfstoff "A"

Der Impfstoff "A" ist ein kommerziell hergestellter Impfstoff, bestehend aus folgenden inaktivierten Virusarten: PI-3-Virus, Reo 1-Virus, BAV 3, IBR-IPV-Virus und BVD-MD-Virus.
Die Mindesttiter werden vom Hersteller wie folgt angegeben:

- PI-3-Virus 1 200 H.A./Dosis
- Reo 1-Virus 10^7 KID_{50}/Dosis
- BAV 3 10^6 KID_{50}/Dosis
- IBR-IPV-Virus $10^{6,5}$ KID_{50}/Dosis
- BVD-MD-Virus 10^6 KID_{50}/Dosis

Außerdem enthält der Impfstoff Suspendierungshilfsmittel, die nicht näher bezeichnet sind.

3.1.5.3 Impfstoff "B"

Der Impfstoff "B", ebenfalls ein kommerziell hergestellter Impfstoff, bestehend aus folgenden inaktivierten Virusarten:

- PI-3-Virus
- Reo 1-Virus
- BAV 3

sowie einem Adjuvans.
Antigengehalt, sowie Art und Menge des Adjuvans sind nicht bekannt.

3.1.6 Tierversuche

Die Impfstoffe "RGV" und "A" wurden bestimmungsgemäß im Rind und vergleichend dazu in weißen Mäusen auf ihre antikörperstimulierende Wirkung geprüft.
Die Prüfung des Impfstoffes "B" erfolgte nur in Mäusen.
Mit der Einbeziehung eines kleinen Versuchstieres, -der weißen Maus-, in die Untersuchungen sollte ermittelt werden, ob und inwieweit die weiße Maus für Wirksamkeitsprüfungen derartiger Impfstoffe geeignet ist.

3.1.6.1 Versuche mit Rindern

Für die Prüfung der Impfstoffe "RGV" und "A" standen insgesamt 48 Rinder in 3 Beständen zur Verfügung. In keinem der Bestände waren ab mindestens 4 Wochen vor der 1. Impfung bis zum Versuchsende neue Tiere zugestallt worden.

3.1.6.1.1 Impfungen mit Impfstoff "RGV"

In einem Rindermastbetrieb wurden 17 Jungtiere der Fleckviehrasse im Alter von 7-11 Monaten geimpft. 2 Kontrolltiere blieben ungeimpft. Zwei in verschiedenen Ställen untergebrachte Tiergruppen bildeten die Versuchgruppen Nr. 1 und Nr. 2:

Gruppe 1: 7 Jungrinder und 5 Jungbullen, 7-8 Monate alt, und 1 ungeimpfter gleichaltriger Jungbulle.

Gruppe 2: 5 Jungrinder, 11 Monate alt, und 1 ungeimpftes gleichaltriges Jungrind.

Die Tiere beider Gruppen, -außer den Kontrolltieren-, sind zweimal im Abstand von 4 Wochen subkutan an der linken Halsseite geimpft worden.
Die Impfdosis betrug jeweils 5,0 ml.

3.1.6.1.2 Impfungen mit Impfstoff "A"

Vom Impfstoff "A" sind 2 verschiedene Chargen (Nr.0975 u. Nr.0985) in 2 verschiedenen Beständen (Versuchsgruppen Nr. 3 und Nr. 4) mit insgesamt 28 Impflingen erprobt worden.

Gruppe 3: 4 Fleckviehkühe, 2-3 Jahre, und deren Kälber, 3, 4, 6 und 19 Wochen alt, in der Versuchstierabteilung des Inst. f.Mikrobiol.u.Infektionskrankheiten d.Tiere, Tierärztl. Fak. d. L.M.Universität München.

Gruppe 4: 20 Jungtiere verschiedener Rassen, 2-5 Monate alt, eines Milchviehhaltungs- und Rindermastbetriebs, und ein ungeimpftes gleichaltriges Kontrolltier. Die Tiere waren in Laufboxen zu je 7 Stück in einem Stall untergebracht.

Die Impfung der 28 Tiere erfolgte zweimal im Abstand von 4 Wochen. Impfdosis (2 ml) und Impfmodus (intramuskulär) entsprachen den Angaben des Herstellers.

3.1.6.1.3 Gewinnung der Rinderseren für serologische Untersuchungen

Allen Impflingen wurden viermal im Abstand von jeweils 4 Wochen ca. 30 ml Jugularvenenblut entnommen. Die Blutproben erhielten die Bezeichnung A, B, C und D.

A: 1. Blutentnahme vor der 1. Impfung,
B: 2. Blutentnahme vor der 2. Impfung (= 4 Wochen nach der 1. Impfg.),
C: 3. Blutentnahme 4 Wochen nach der 2. Impfung,
D: 4. Blutentnahme 8 Wochen nach der 2. Impfung.
Den Kontrolltieren sind entsprechende Blutproben entnommen worden.

Nach vollständiger Gerinnung des Blutes und Ablösen des Koagulums von der Glaswand blieben die Proben über Nacht im Kühlschrank bei 4° C. Serum und Koagulum wurden anschließend zweimal bei 1 500 g über 30 min. zentrifugiert, und der Überstand im Wasserbad bei 56° C eine halbe Std. inaktiviert.
Die Aufbewahrung der Seren bis zur weiteren Untersuchung erfolgte bei -20° C.

3.1.6.2 Versuche mit Mäusen

Bei den Versuchen mit weißen Mäusen wurden männliche, 4-6 Wochen alte Tiere des NMRI-Inzuchtstammes mit einem durchschnittlichen Gewicht von 30 g verwendet. Die Mäuse wurden in Gruppen zu jeweils 5 in Plastkkäfigen gehalten und bekamen Altromin-Pellets und Trinkwasser ad libitum.

Das Impfvolumen bei Mäusen entsprach bei allen Impfstoffen, abgesehen von 2 ergänzenden Versuchsreihen (s. 3.1.6.2.1 und 3.1.6.2.2), einem Viertel der bei den Rindern verwendeten Impfdosis. Die Applikation der Impfstoffe erfolgte einmal, und zwar in parallel laufenden Versuchsreihen subkutan (s.c.) bzw. intraperitoneal (i.p.).

3.1.6.2.1 Impfungen mit Impfstoff "RGV"

30 Mäuse wurden mit jeweils 1,25 ml s.c. seitlich der Wirbelsäule in Höhe des Rippenbogens -auf 2 Depots verteilt- geimpft.
30 Mäuse wurden i.p. mit ebenfalls 1,25 ml geimpft.
30 Mäuse blieben als Kontrollen ungeimpft.

In einem weiteren Versuch mit gleicher Impfmethode bekamen 30 Mäuse lediglich 0,5 ml des Impfstoffes (dies entsprach 1/10 der Rinderdosis). Als negative Kontrollen dienten 30 ungeimpfte Kontrollmäuse.

3.1.6.2.2 Impfungen mit Impfstoff "A"

Vom Impfstoff "A" wurden 3 verschiedene Chargen geprüft. Charge Nr. 0975 und Nr. 0985 ist an jeweils 20 bzw. 30 Mäuse subkutan und parallel dazu intraperitoneal einmal verabreicht worden.
2 Gruppen ungeimpfter Kontrollmäuse dienten als negative Kontrollen.

In einem ergänzenden Versuch (Impfstoffcharge Nr. 0-12) wurde der Impfstoff einer Gruppe von 15 Mäusen zweimal im Abstand von 21 Tagen intraperitoneal inokuliert. In allen Fällen betrug die Impfdosis 0,5 ml.

3.1.6.2.3 Impfungen mit Impfstoff "B"

Den Impfstoff "B" erhielten je 30 Mäuse einmal i.p. bzw. s.c. Das Impfvolumen war 0,5 ml. Die Kontrollgruppe blieb ungeimpft.

Eine zusammenfassende Übersicht über die Applikation der Impfstoffe "RGV", "A" und "B" an Mäuse vermitteln die Tabellen 8 und 9.

Tabelle 8 Impfungen von weißen Mäusen mit den Impfstoffen "RGV", "A" und "B"

Inokulum	Charge	Inokulations-modus	Dosis ml	Anzahl Mäuse
"RGV"	8	s.c.	1,25	30
"RGV"	8	i.p.	1,25	30
—	–	Kontrolle	—	30
"RGV"	8	s.c.	0,5	30
"RGV"	8	i.p.	0,5	30
—	–	Kontrolle	—	30
"A"	0975	s.c.	0,5	20
"A"	0975	i.p.	0,5	20
–	—	Kontrolle	—	20
"A"	0985	s.c.	0,5	30
"A"	0985	i.p.	0,5	30
–	—	Kontrolle	—	30
"B"	30	s.c.	0,5	30
"B"	30	s.c.	0,5	30
–	—	Kontrolle	—	30

Tabelle 9 Zweimalige Impfung von weißen Mäusen mit Impfstoff "A" im Abstand von 21 Tagen

Inokulum	Charge	Inokulations-modus	Dosis 1.Impfg.	Dosis 2.Impfg.	Anzahl Mäuse
"A"	0-12	i.p.	0,5 ml	0,5 ml	15

3.1.6.2.4 Gewinnung der Mäuseseren für serologische Untersuchungen

Die Gewinnung der Blutseren von geimpften Mäusen erfolgte 21 Tage nach der Impfung, bei zweimal geimpften Tieren 7 Tage nach der 2. Impfung. Dazu sind die Mäuse narkotisiert, ihre Karotiden und Jugularvenen durchtrennt und das Blut in kleinen Petrischalen aufgefangen worden. Mit den Kontrolltieren wurde entsprechend verfahren.

Nach Gerinnung des Blutes und Ablösen des Koagulums vom Glas blieben die Proben bei 4° C im Kühlschrank 2 Std. stehen.
Die Blutseren jeweils einer Versuchsgruppe wurden gepoolt.
Serumgewinnung und Inaktivierung der Seren erfolgte analog der Behandlung der Rinderblutproben. Die Serumpools der einzelnen Impfgruppen lagerten bis zur weiteren Verwendung bei -20° C.

3.1.6.2.5 Inokulation von Virussuspensionen in Mäuse

Die Empfänglichkeit von weißen Mäusen gegenüber den in den Impfstoffen "RGV", "A" und "B" in inaktivierter Form als Komponente enthaltenen Virusantigenen wurde mittels Inokulation einer entsprechenden Virussuspension mit bekanntem Infektiositätstiter und anschließendem Nachweis spezifischer Serumantikörper untersucht. Somit wurde jedem von jeweils 15 in einer Gruppe zusammengefaßten Tieren 0,1 ml einer Virussuspension s.c., einer parallel laufenden Versuchsgruppe i.p. injiziert.
Die Infektion mit Reovirus-Suspensionen erfolgte nur i.p.
Bei jedem Versuch lief eine ungeimpfte Kontrollgruppe mit.

In einem weiteren Versuch wurden jeweils 0,1 ml von IBR-IPV- und BVD-MD-Virussuspensionen 2 Gruppen zweimal im Abstand von 21 Tagen i.p. verabreicht.

Die Versuchdaten sind in den Tabellen 10 und 11 zusammengefaßt.

Tabelle 10 Inokulation von Virussuspensionen in weiße Mäuse

Inokulum	Dosis KID_{50}	Inokulations-volumen	Inokulations-modus	Anzahl Mäuse
PI-3-Virus	$10^{7,5}$	0,1 ml	s.c.	15
PI-3-Virus	$10^{7,5}$	0,1 ml	i.p.	15
Reo 1-Virus	$10^{7,0}$	0,1 ml	i.p.	15
Reo 2-Virus	$10^{5,25}$	0,1 ml	i.p.	15
Reo 3-Virus	$10^{6,25}$	0,1 ml	i.p.	15
BAV 1	$10^{5,75}$	0,1 ml	s.c.	15
BAV 1	$10^{5,75}$	0,1 ml	i.p.	15
BAV 3	$10^{4,25}$	0,1 ml	s.c.	15
BAV 3	$10^{4,25}$	0,1 ml	i.p.	15
BAV 5	$10^{5,25}$	0,1 ml	s.c.	15
BAV 5	$10^{5,25}$	0,1 ml	i.p.	15
IBR-IPV-Virus	$10^{7,0}$	0,1 ml	s.c.	15
IBR-IPV-Virus	$10^{7,0}$	0,1 ml	i.p.	15
BVD-MD-Virus	$10^{5,25}$	0,1 ml	s.c.	15
BVD-MD-Virus	$10^{5,25}$	0,1 ml	i.p.	15

Tabelle 11 Zweimalige Inokulation von Virussuspensionen in weiße Mäuse im Abstand von 21 Tagen

Inokulum	1.Dosis KID_{50}	2.Dosis KID_{50}	Inok.-volumen	Inok.-modus	Anzahl Mäuse
IBR-IPV-Virus	$10^{5,25}$	$10^{7,25}$	0,1 ml	i.p.	15
BVD-MD-Virus	$10^{6,5}$	$10^{6,5}$	0,1 ml	i.p.	15

3.1.6.2.6 Gewinnung der Mäuseseren

Die Gewinnung der Blutproben und die Behandlung der Seren erfolgte in der unter 3.1.6.2.4 beschriebenen Methode.

3.1.7 Prüfung der Rinder- und Mäuseseren auf bakterielle Kontamination

Von allen Seren wurden Proben auf Blutagarplatten ausgestrichen und 48 Std. bei 37° C inkubiert.
Unsterile Seren wurden mit einem Millipore-Filter (Porengröße 45 nm) filtriert, nochmals ausgestrichen und inkubiert. Nach der Filtration war bei keinem der Seren mehr Keimwachstum auf der Blutagarplatte festzustellen.

3.1.8 Serologische Untersuchungen

3.1.8.1 Hämagglutinationshemmungstest (HAH-Test)

Zum Nachweis hämagglutinationshemmender Serumantikörper gegenüber PI-3-Virus und Reovirus in den Versuchstierseren diente der Hämagglutinationshemmungstest. Dieser wurde im Mikrotiterverfahren (System Cooke, Reaktionsmengen 0,025 ml) ausgeführt.

3.1.8.1.1 PI-3 - HAH-Test

Die schon vor Versuchsbeginn inaktivierten Seren wurden zur Beseitigung von Isoagglutininen im Verhältnis 1:4 mit einer 5 %igen Meerschweincherythrozytensuspension verdünnt und bei 37° C 1 Std. inkubiert. Während dieser Zeit wurden die Gemische mehrere Male leicht geschüttelt. Nach dem Abzentrifugieren der Erythrozyten (600 g, 10 min.) diente der Überstand (Serumverdünnung 1:4) als

Ausgangsmaterial für die Serumverdünnungsreihen. Diese sind mit physiologischer Kochsalzlösung in Übertragplatten angelegt worden. Zu den Serumverdünnungen kam jeweils das gleiche Volumen Antigengebrauchsverdünnung (4 hämaggl. Einheiten). Nach einer Inkubationszeit von 1 Std. bei 37° C wurden die Übertragplatten in V-Platten getaucht, in deren Vertiefungen zuvor jeweils 0,025 ml einer 1 %igen Meerschweinchenerythrozytensuspension eingefüllt worden war.
Nach vorsichtigem Schütteln blieben die V-Platten bei 37° C stehen.
Parallel zu jedem Versuch liefen folgende Kontrollen:

- NaCl-Kontrolle: physiol. NaCl-Lösung + Erythrozytensuspension,
- Serumkontrolle: Testserum + NaCl-Lösung + Erythrozytensuspension,
- Antigenkontrolle: Titration der Antigengebrauchsverdünnung + NaCl-Lösung + Erythrozytensuspension.

Die Ablesung der Ergebnisse erfolgte nach vollständiger Sedimentation der Erythrozyten bei den NaCl-Kontrollen.

Als Serumantikörpertiter galt die höchste Serumverdünnung, die eine Agglutination der Erythrozyten durch das PI-3-Virus vollständig hemmte. Dies war bei zungenförmigem Auslaufen der sedimentierten Erythrozyten nach dem Schräghalten der V-Platten gegeben.

Bei der Beurteilung von Titerunterschieden wurde eine Differenz von mindestens 2 Verdünnungsstufen als signifikant angesehen.

3.1.8.1.2 Reovirus - HAH-Test

Die Serumproben wurden mit einer 25 %igen Kaolinsuspension (199) (in physiol. NaCl-Lösung) im Verhältnis 1:2 versetzt und unter wiederholtem Umschütteln bei Zimmertemperatur 10 min. aufbewahrt. Nach dem Abzentrifugieren des Kaolins (1 500 g, 15 min.) wurde der Überstand mit einer 10 %igen Humanerythrozytensuspension der Blutgruppe 0 im Verhältnis 1:2 versetzt, und das Gemisch bei Zimmertemperatur 1 Std. stehen gelassen. Die Erythrozyten wurden bei 600 g 10 min. abzentrifugiert.
Der Überstand entsprach einer Serumverdünnung von 1:4.

Die technische Durchführung des Reovirus - HAH-Tests entsprach

der des PI-3 - HAH-Tests.
Als Reagens für den Nachweis der Reovirus-Hämagglutinine sind Humanerythrozyten der Blutgruppe 0 verwendet worden.
Die Reaktionsgemische blieben bis zum Ablesen der Ergebnisse bei Zimmertemperatur stehen.

3.1.8.2 Neutralisationstest (N-Test)

Zum Nachweis von Serumantikörpern gegenüber IBR-IPV-Virus, BVD-MD-Virus und bovinen Adenoviren wurde der Neutralisationstest angesetzt. Seine Durchführung erfolgte:

a) als Röhrchentest (IBR-IPV-, BVD-MD-Virus und BAV 5 (Mäuseseren)), bzw.
b) als Mikrotest (BAV 1, BAV 3 und BAV 5 (Rinderseren)).

3.1.8.2.1 Röhrchen - N-Test

Serumverdünnungen in 2er Potenzen, angesetzt unter Verwendung von Erhaltungsmedium, wurden mit gleichen Mengen einer Virussuspension, die ca. 100 KID_{50}/0,1 ml (bei IBR-IPV-Virus ca. 30 KID_{50}/0,1 ml) enthielt, gemischt und bei 37° C im Wasserbad eine Std. inkubiert. Anschließend wurde von jedem Reaktionsgemisch 0,2 ml auf je 4 Zellkulturröhrchen verimpft.
Nachweise von Serumantikörpern gegenüber BAV 5, IBR-IPV- und BVD-MD-Virus erfolgten in Zellkulturröhrchen mit primären fetalen (IBR-IPV) und sekundären fetalen (BAV 5, IBR-IPV, BVD-MD) KH-Zellen.
Die Ablesung der Ergebnisse erfolgte nach 5 Tagen (IBR-IPV), nach 7 Tagen (BVD-MD) und nach 11 Tagen (BAV 5).

3.1.8.2.2 Mikro - N-Test

In für Einmalgebrauch bestimmten Zellkulturplatten (Linbro) mit flachem Boden sind die Seren mit Anzuchtmedium in 2er Potenzen bis zur Verdünnung 2^{-11}, in einzelnen Fällen bis zu 2^{-16} verdünnt

worden. Zu jeder Serumverdünnung kam 0,025 ml einer Virusgebrauchsverdünnung, die ca. 100 KID_{50}/0,025 ml enthielt. Dieses Virus-Serumgemisch wurde mit einem Plastikdeckel zugedeckt und in einem Brutschrank mit einer CO_2-Spannung von 4,3 % 1 Std. bei 37° C inkubiert.
Anschließend wurde zu den Serum-Virus-Gemischen 0,025 ml einer Zellsuspension getropft, die auf eine Zellkonzentration von 500 000 sekundäre fetale KH-Zellen/ml bzw. 300 000 sekundäre fetale ENK-Zellen/ml eingestellt worden war. Danach wurden die Platten mit einer Plastikfolie zugeklebt und im CO_2-Brutschrank stehen gelassen.

Sowohl beim Röhrchen- als auch beim Mikro - N-Test liefen in jedem Versuch entsprechende Serum-, Virus- und Zellkulturkontrollen mit. Die Zahl der Reagenten betrug in beiden Fällen 4.
Reagenten, die keinen der Viruskontrolle entsprechenden zytopathischen Effekt zeigten, sind als positiv bewertet worden.

Die Berechnung der Antikörpertiter erfolgte nach der Methode von Behrens/Kärber (145).
Titerdifferenzen von ≥2,2 $\log_2$ wurden als signifikant erachtet.

3.2 VERSUCHE UND ERGEBNISSE

3.2.1 Impfungen von Rindern mit den Impfstoffen "RGV" und "A"

3.2.1.1 Klinische Beobachtungen nach der Impfung

Bei den geimpften Kälbern, Rindern und Kühen wurden nach den Impfungen mit den Impfstoffen "RGV" und "A" keine klinischen Anzeichen einer lokalen oder allgemeinen Impfreaktion festgestellt. Ein Rind der Gruppe 2 (Nr.46) mußte 2 Wochen nach der 2. Impfung wegen eines Knochenbruchs notgeschlachtet werden. Es blieb bei der Auswertung der Impfergebnisse unberücksichtigt.
2 Kälber der Gruppe 4 (Nr.11 und 12) zeigten 6 Wochen nach der

2. Impfung starken wäßrigen Durchfall und Temperaturen von 39.1° C bzw. 39.5° C. Nach einer Antibiotika- und Citarin^{R} -Behandlung war das Befinden der Tiere 2 Wochen später bei der letzten Blutentnahme (D) wieder normal. Während der Behandlungsdauer wurden beide Tiere in einem angrenzenden Laufstall abgesondert.
1 Kalb der Gruppe 4 (Nr.21) zeigte 8 Wochen nach der 2. Impfung Husten, serösen Nasenausfluß und leichte Konjunktivitis.

3.2.1.2 Bildung von Serumantikörpern im Rind nach Impfung mit Impfstoff "RGV"

Analog zu den im Impfstoff "RGV" enthaltenen Antigenen wurden die von den 17 Impflingen und 2 Kontrolltieren gewonnenen Seren untersucht auf das Vorkommen von Serumantikörpern (Ak) gegenüber:

- Parainfluenza-3-Virus (HAH-Test),
- Reovirus Serotypen 1 und 3 (HAH-Test),
- Rovinem Adenovirus Serotypen 1, 3 und 5 (N-Test).

Zusätzlich wurden die Seren auf das Vorkommen von Reovirus Serotyp 2-Antikörpern untersucht.

3.2.1.2.1 Serumantikörper gegenüber Parainfluenza-3-Virus

Von den 17 mit Impfstoff "RGV" geimpften Tieren waren zu Beginn des Versuchs 10 seronegativ (Antikörpertiter $<2^{-2}$). Diese zeigten im Zeitraum zwischen der 1. Impfung und 4 Wochen nach der 2. Impfung 5-7 fachen Titeranstieg. Auch die 7 Tiere mit Ak-Titern zwischen 2^{-3} und 2^{-6} reagierten ausnahmslos mit Titeranstiegen, die jedoch nur bei 4 Tieren signifikant waren.
Bei den meisten Impflingen erfolgte der größte Titeranstieg nach der 1. Impfung, während nach der Boosterimpfung nurmehr 4 Tiere einen Anstieg zeigten. Bei 7 Tieren blieb der Titer im Zeitraum zwischen der 2. Impfung und 4 Wochen danach gleich, bei 2 Tieren fiel er sogar leicht ab.

8 Wochen nach der Boosterimpfung hatten 13 Impflinge ein- bis zweifachen Titerabfall, bei 3 Tieren blieb der Ak-Titer gleich.

Ein ungeimpftes Kontrolltier (Gruppe 1) zeigte im Zeitraum zwischen 4 und 8 Wochen nach der 2. Impfung einen signifikanten Titeranstieg. Beim Kontrolltier der Gruppe 2 blieb der Antikörpertiter während des ganzen Versuchs unverändert.

Die Einzelergebnisse sind in Tabelle 12 aufgeführt.

3.2.1.2.2 Serumantikörper gegenüber Reovirus Serotyp 1

5 bei Versuchsbeginn seronegative Tiere reagierten auf die zweimalige Impfung mit 4-6fachem Anstieg der Reo 1-Antikörpertiter. 11 Tiere mit positiven Ak-Titern von 2^{-3} bis 2^{-6} zeigten ebenfalls Titeranstiege, die bei 5 Tieren signifikant waren. Bei einem Impfling änderte sich der Titer nicht.
Nach der 1. Impfung war der Ak-Anstieg deutlicher als nach der 2. Impfung.
8 Wochen nach der Boosterimpfung waren die Antikörpertiter bei 4 Impflingen um 1-2 2er-Potenzen gesunken.

Bei den Kontrolltieren konnten während der ganzen Versuchsdauer keine signifikanten Titerschwankungen beobachtet werden.

Über die Einzelergebnisse gibt die Tabelle 12 Aufschluß.

3.2.1.2.3 Serumantikörper gegenüber Reovirus Serotyp 2

Obwohl dieses Antigen im Impfstoff "RGV" nicht enthalten war, wurden die Seren auf entsprechende Antikörper untersucht. Dabei konnte bei 15 Tieren eine Bildung heterologer Antikörper beobachtet werden, die bei 10 Tieren sogar signifikant war.

Eine Übersicht über die Einzelergebnisse vermittelt die Tabelle 12.

3.2.1.2.4 Serumantikörper gegenüber Reovirus Serotyp 3

Alle Impflinge hatten bei Versuchsbeginn positive Titer von Serumantikörpern gegenüber Reovirus Serotyp 3, die zwischen 2^{-4} und 2^{-6} lagen. 14 Tiere reagierten auf die zweimalige Impfung mit Titeranstiegen, davon 6 Tiere signifikant.
Nach der 2. Impfung war die Ak-Reaktion deutlicher ausgeprägt als nach der 1.Impfung.
Innerhalb 4-8 Wochen nach der 2. Impfung fiel der Ak-Titer bei 12 Impflingen wieder um 1-2 Zweierpotenzen ab.

Die Kontrollen wiesen keinen Titeranstieg auf.

Eine Zusammenfassung der Ergebnisse findet sich in Tabelle 12.

3.2.1.2.5 Serumantikörper gegenüber BAV Serotyp 1

Vor der ersten Impfung hatten alle Tiere positive Serumantikörpertiter gegenüber BAV 1. Die Titer bewegten sich zwischen $\leq 2^{-4,5}$ und $2^{-11,75}$.
Die zweimalige Impfung hatte bei 16 der 17 Impflingen eine Bildung spezifischer Antikörper zur Folge, die bei 12 Tieren über der Signifikanzschwelle lag.
4 Wochen nach der 2. Impfung wurden Antikörpertiter zwischen $\geq 2^{-8,5}$ und $2^{-14,75}$ ermittelt.
8 Wochen nach der 2. Impfung war bei einem Tier der Ak-Titer signifikant abgesunken.

Die Antikörpertiter der Kontrolltiere schwankten unsignifikant.

Die ermittelten Einzelwerte sind in Tabelle 12 zusammengefaßt.

3.2.1.2.6 Serumantikörper gegenüber BAV Serotyp 3

Bei Versuchbeginn waren die BAV 3-Antikörpertiter bei 2 Impflingen $\leq 2^{-0,5}$, bei den übrigen 15 lagen die Titer zwischen $2^{-0,75}$ und $2^{-6,5}$. Schon auf die erste Impfung reagierten alle Tiere mit der Bildung von Antikörpern, bei 8 Tieren war der Titeranstieg sogar signifikant.

4 Wochen nach der 2. Impfung waren die Titeranstiege bei 12 von 17 Impflingen signifikant.
Im Zeitraum zwischen 4 und 8 Wochen nach der 2. Impfung fielen die Antikörpertiter bei 14 Impflingen um 0,25 bis 2,0 $\log_2$ nicht signifikant ab.

Die Kontrollen zeigten während des ganzen Versuchs keine signifikante Titeränderungen.

Eine Aufstellung der Ergebnisse bringt die Tabelle 12.

3.2.1.2.7 Serumantikörper gegenüber BAV Serotyp 5

Vor der ersten Impfung lagen die Titer der Antikörper gegenüber BAV 5 bei den Impflingen zwischen $2^{-2,0}$ und $2^{-14,5}$. In der Versuchsgruppe 1 reagierten nach 2 Impfungen 10 von 12 Impflingen mit einem signifikanten Anstieg der Antikörpertiter. Bemerkenswert war, daß auch Tiere mit hohem Ausgangstiter noch spezifische Antikörper bildeten.
8 Wochen nach der 2. Impfung war der Ak-Titer bei 1 Tier wieder um 2,75 $\log_2$ abgesunken.

Das ungeimpfte Kontrolltier zeigte keine signifikante Titerbewegung.

In der Versuchgruppe 2 verhielten sich die 5 Impflinge entsprechend, allerdings reagierte hier auch das ungeimpfte Kontrolltier mit einem signifikanten Anstieg des BAV 5-Antikörpertiters.

Die Ergebnisse sind in der Tabelle 12 zusammengefaßt.

Tabelle 12 Ergebnisse der serologischen Untersuchungen bei Rindern auf das Vorkommen von Antikörpern gegenüber PI-3-Virus, Reovirus Serotypen 1, 2 und 3, sowie BAV 1, 3 und 5 nach zweimaliger Impfung mit Impfstoff "RGV"

Tiere	Tiernr. -Gruppe	Impfstoff, Charge	Serumbe- zeichnung ++)	Titer der Serumantikörper ($-\log_2$)						
				PI-3	Reo 1	Reo 2+)	Reo 3	BAV 1	BAV 3	BAV 5
Rinder 7-8 Mon. alt	30-1	"RGV" 8	A	<2	<2	<2	5	9,75	3,5	4,25
			B	4	5	<2	5	12,5	6,75	11,0
			C	8	5	4	6	12,75	6,75	8,5
			D	6	5	3	5	11,25	6,25	8,25
	31-1		A	3	6	4	5	≤4,5	2,5	13,0
			B	6	5	4	6	9,0	4,75	15,0
			C	6	7	4	6	11,25	7,0	≥15,75
			D	4	6	4	6	9,75	6,0	14,75
	32-1		A	<2	4	5	4	11,75	6,5	11,75
			B	5	5	6	6	12,5	9,5	15,75
			C	8	4	7	≥8	13,0	9,5	15,25
			D	8	4	6	7	11,75	8,5	14,25
	33-1		A	6	5	7	4	9,5	2,5	9,5
			B	7	5	6	5	9,5	4,5	9,0
			C	7	7	6	8	11,0	5,5	10,25
			D	6	7	6	7	10,0	4,25	9,75
	34-1		A	5	3	<2	5	5,5	3,75	11,25
			B	6	4	<2	6	9,5	4,25	13,0
			C	6	4	<2	6	11,0	5,75	14,5
			D	5	4	<2	5	9,0	5,0	13,5
	35-1		A	6	6	4	5	7,0	3,0	14,5
			B	7	4	4	5	9,75	5,25	15,0
			C	7	8	5	8	14,75	5,5	14,0
			D	7	7	4	7	13,5	5,5	13,75

+) Untersuchung auf heterologe Antikörperbildung
++) A: Blutentnahme vor der 1. Impfung
B: Blutentnahme vor der 2. Impfung
C: Blutentnahme 4 Wochen nach der 2. Impfung
D: Blutentnahme 8 Wochen nach der 2. Impfung

Tabelle 12 (Forts.)

Tiere	Tiernr. -Gruppe	Impfstoff, Charge	Serumbezeichnung ++)	Titer der Serumantikörper ($-\log_2$) PI-3	Reo 1	Reo 2 +)	Reo 3	BAV 1	BAV 3	BAV 5
Rinder 7-8 Mon. alt	36-1	"RGV" 8	A	6	6	4	5	6,25	4,5	9,25
			B	8	6	5	5	9,0	5,5	10,75
			C	9	6	4	6	10,5	6,25	12,5
			D	7	6	4	5	9,5	4,75	14,0
Bullen 7-8 Mon. alt	37-1		A	<2	3	4	4	6,25	≤0,5	2,0
			B	5	6	5	5	12,0	4,5	12,25
			C	7	6	5	7	13,0	5,75	≥14,5
			D	6	6	6	6	11,5	4,75	≥14,5
	38-1		A	3	<2	<2	5	6,75	≤0,5	4,5
			B	6	4	2	5	11,75	1,75	≥11,5
			C	5	7	4	6	12,25	6,5	≥11,5
			D	4	5	4	5	12,0	5,0	≥11,5
	39-1		A	<2	4	4	5	9,75	3,0	7,25
			B	4	5	5	5	10,5	4,5	12,25
			C	6	6	5	5	11,75	7,0	10,5
			D	5	6	5	5	11,25	5,75	10,0
	40-1		A	<2	3	3	6	10,0	3,75	3,25
			B	5	4	4	6	10,25	5,5	≥11,5
			C	6	4	5	6	12,0	5,75	≥11,5
			D	5	4	5	6	10,0	4,5	≥11,5
	42-1		A	4	3	<2	5	6,0	4,0	4,75
			B	8	5	<2	6	9,75	6,0	5,25
			C	7	5	3	6	10,0	5,75	8,0
			D	6	5	4	5	10,25	5,5	7,25
	41-1	Kontrolle unge-impft	A	<2	3	3	6	8,0	1,0	4,5
			B	<2	3	3	5	7,5	1,0	5,25
			C	<2	3	2	5	8,0	1,5	6,0
			D	5	4	5	5	7,0	1,5	6,0

Tabelle 12 (Forts.)

Tiere	Tiernr. -Gruppe	Impfstoff, Charge	Serumbe- zeichnung ++)	Titer der Serumantikörper ($-\log_2$) PI-3	Reo 1	Reo 2+)	Reo 3	BAV 1	BAV 3	BAV [illegible]
Rinder 11 Mon. alt	43-2	"RGV" 8	A	<2	<2	<2	5	6,25	2,0	4,75
			B	6	4	<2	7	10,25	3,25	8,0
			C	7	4	4	7	10,75	5,5	9,0
			D	6	4	3	6	9,75	5,0	7,5
	44-2		A	<2	<2	<2	4	5,5	0,75	2,5
			B	7	5	4	6	11,5	4,5	≥11,5
			C	7	5	3	8	11,5	7,0	≥11,5
			D	6	4	3	6	11,0	5,25	≥11,5
	45-2		A	<2	<2	<2	6	8,75	1,0	2,75
			B	5	4	<2	6	10,5	5,25	8,25
			C	5	4	3	7	11,75	5,25	5,75
			D	3	4	<2	6	10,75	3,25	5,75
	46-2		A	<2	3	4	6	8,75	0,75	7,25
			B	4	4	3	6	7,5	1,5	5,5
			C	/	/	/	/	/	/	/
			D	/	/	/	/	/	/	/
	47-2		A	<2	3	5	5	5,5	1,25	2,5
			B	5	4	6	5	10,25	5,75	≥11,25
			C	5	4	5	6	8,5	4,0	≥10,25
			D	5	4	6	6	8,0	4,5	≥10,75
	48-2	Kontrolle unge-impft	A	5	5	3	5	5,5	≤0,5	1,5
			B	5	4	3	5	5,0	≤0,5	≥11,5
			C	5	5	3	5	6,0	1,5	≥11,5
			D	5	5	3	5	5,5	1,25	≥11,5

3.2.1.2.8 Zusammenfassende Übersicht über die Antikörperreaktionen bei Rindern nach Impfung mit Impfstoff "RGV"

Aus den Einzelergebnissen der serologischen Untersuchungen bei den Impflingen wurde für den Zeitpunkt der jeweiligen Blutentnahme (vor der 1.Impfung, vor der 2.Impfung, 4 und 8 Wochen nach der 2. Impfung) das geometrische Mittel der Antikörpertiter errechnet. Der Vergleich der Mittelwerte macht die gute antikörperstimulierende Wirkung des Impfstoffes deutlich:
nach 2 Impfungen lagen die Titer der Antikörper gegenüber PI-3-Virus, Reovirus Serotyp 1, BAV 1, BAV 3 und BAV 5 um 2,6 bis 5,3 $\log_2$ höher als vor der 1. Impfung.
Bei Reo 3-Antikörpern war der durchschnittliche Titeranstieg mit 1,8 $\log_2$ am geringsten.
Im Zeitraum zwischen 4 und 8 Wochen nach der 2. Impfung machte sich eine geringe rückläufige Tendenz der Antikörpertiter (bis 1,0 $\log_2$) bemerkbar.

Die errechneten Mittelwerte sind in der Tabelle 13 aufgeführt.

Tabelle 13 Geometrischer Mittelwert der Serumantikörpertiter der zweimal mit Impfstoff "RGV" geimpften Rinder

Tiere	Anzahl Tiere	Impfstoff, Charge	Serum- +) bezeichng.	Serumantikörpertiter ($-\log_2$)					
				PI-3	Reo 1	Reo 3	BAV 1	BAV 3	BAV 5
Rinder und Bullen	17++)	"RGV" B	A Ø	2,0	2,8	4,9	7,4	2,6	6,5
			B Ø	5,9	4,7	5,6	10,5	5,1	11,2
			C Ø	6,6	5,4	6,7	11,6	6,2	11,8
			D Ø	5,6	5,1	5,8	10,6	5,2	11,8

+) A, B, C, D bezeichnen entsprechende Blutentnahmen vor der 1.Impfung, vor der 2.Impfung, 4 und 8 Wochen nach der 2.Impfung.

++) Bei BAV 5-Antikörpertitern wurde nur Versuchsgruppe 1 (12 Impflinge) berücksichtigt.

3.2.1.3 Bildung von Serumantikörpern im Rind nach Impfung mit Impfstoff "A"

Analog zu den im Impfstoff "A" enthaltenen Antigenen wurden die von den Impflingen und Kontrolltieren gewonnenen Seren untersucht auf das Vorkommen von Serumantikörpern gegenüber:

- Parainfluenza-3-Virus (HAH-Test),
- Reovirus Serotyp 1 (HAH-Test),
- Bovinem Adenovirus Serotyp 3 (N-Test),
- IBR-IPV-Virus (N-Test),
- BVD-MD-Virus (N-Test).

3.2.1.3.1 Serumantikörper gegenüber Parainfluenza-3-Virus

Bei Versuchsbeginn waren 10 der insgesamt 28 Impflinge seronegativ (Antikörpertiter $<2^{-2}$). Die übrigen Tiere hatten Antikörpertiter zwischen 2^{-2} und 2^{-9}.
Zwischen der 1. Impfung und 4 Wochen nach der 2. Impfung reagierten 22 Impflinge mit einem Ansteigen der Antikörpertiter. Bei 14 Tieren war der Titeranstieg signifikant. Die höchsten Titeranstiege betrafen Tiere mit Ausgangstitern von $<2^{-2}$ bis 2^{-2} (Anstiege bis maximal 4 2er Potenzen). Nach der 2. Impfung war die Antikörperreaktion stärker ausgeprägt als nach der 1. Impfung.
8 Wochen nach der 2. Impfung waren die Antikörpertiter bei 14 Impflingen um 1-2 Zweierpotenzen zurückgegangen.

Der Titer des Kontrolltieres fiel während des Versuches zunächst von 2^{-3} auf $<2^{-2}$; am Versuchsende betrug er 2^{-2}.

Einen Überblick über die Einzelergebnisse vermittelt die Tabelle 14.

3.2.1.3.2 Serumantikörper gegenüber Reovirus Serotyp 1

Vor der 1. Impfung reagierten von 28 Impflingen 9 seronegativ (Antikörpertiter $<2^{-2}$), bei den übrigen Tieren lagen die Anti-

körpertiter zwischen 2^{-2} und 2^{-8}.
Die antikörperstimulierende Wirkung des Impfstoffes hinsichtlich Reo 1-Antikörpern erwies sich als sehr gering.
4 Wochen nach der 1. Impfung war der Antikörpertiter bei keinem der Impflinge signifikant angestiegen, lediglich bei 5 Tieren lagen die Ak-Titer um 1 Zweierpotenz höher.
4 Wochen nach der 2. Impfung war der Titer bei nur 1 Impfling signifikant um 2 2er-Potenzen angestiegen.
8 Wochen nach der 2. Impfung lag der Antikörpertiter bei 2 weiteren Tieren um jeweils 2 Verdünnungsstufen höher als vor der 1. Impfung.
Besonders fällt auf, daß bei 8 der 9 zu Versuchsbeginn seronegativen Impflingen während des ganzen Versuchszeitraumes kein signifikantes Ansteigen der Antikörpertiter nachgewiesen werden konnte.

Der Ausgangstiter des Kontrolltieres änderte sich während des ganzen Versuchs nicht signifikant.

Die Ergebnisse sind in der Tabelle 14 zusammengefaßt.

3.2.1.3.3 Serumantikörper gegenüber BAV Serotyp 3

Bei Versuchbeginn waren 18 der 28 Impflinge seronegativ (Antikörpertiter $\leq 2^{-0,5}$), die Titer der restlichen Tiere lagen zwischen $2^{-1,25}$ und $2^{-4,5}$.
4 Wochen nach der 2. Impfung war der Serumtiter bei 27 der 28 geimpften Tiere angestiegen, davon bei 22 Tieren signifikant.
Der größte Titeranstieg erfolgte bei 8 Tieren nach der 1. Impfung, bei 7 weiteren Tieren nach der 2. Impfung; bei den restlichen 12 Reagenten verlief der Titeranstieg gleichmäßig.
Die höchsten Titeranstiege (bis zu $2^{-7,25}$) wurden bei den zu Versuchsbeginn seronegativen Tieren nachgewiesen.
Innerhalb von 4 bis 8 Wochen nach der 2. Impfung fiel der Serumtiter bei 26 Tieren bis zu 2,0 $\log_2$ ab.

Das Kontrolltier blieb während des ganzen Versuchs seronegativ.

Eine Aufstellung der Ergebnisse bringt die Tabelle 14.

3.2.1.3.4 Serumantikörper gegenüber IBR-IPV-Virus

Bei keinem der Impflinge waren zu Beginn des Versuchs Serumantikörper gegenüber IBR-IPV-Virus nachweisbar (Antikörpertiter $\leq 2^{-0,5}$). 13 Impflinge zeigten während des ganzen Versuchszeitraumes keine serologisch nachweisbare Antikörperbildung. Von den übrigen 15 Tieren reagierten 14 4 Wochen nach der 2. Impfung und 1 Tier nach weiteren 4 Wochen serologisch positiv. Allerdings war der Titeranstieg auf $2^{-2,25}$ bzw. 2^{-3} nur bei 2 geimpften Tieren signifikant. 8 Wochen nach der 2. Impfung waren die Antikörpertiter bei 13 Impflingen wieder abgesunken, davon bei 5 auf Werte von $\leq 2^{-0,5}$.

Bei dem Kontrolltier änderte sich der Antikörpertiter nicht.

Die Einzelergebnisse sind in der Tabelle 14 zusammengefaßt.

3.2.1.3.5 Serumantikörper gegenüber BVD-MD-Virus

In der Versuchsgruppe 3 hatten die 4 Kühe bei Versuchsbeginn durchweg hohe Antikörpertiter ($2^{-8,25}$ - $2^{-9,25}$), ebenso die dazugehörigen Kälber ($2^{-4,75}$ - $2^{-7,5}$).
Bei keinem der Impflinge konnte während des Versuchs eine signifikante Erhöhung der Antikörpertiter nachgewiesen werden, bei den 4 Kälbern sanken die Titer sogar um bis zu 3 $\log_2$ ab (8 Wochen nach der 2. Impfung).
In der Versuchsgruppe 4 reagierten vor der 1. Impfung von 20 Impflingen 7 seronegativ, die übrigen 13 hatten Antikörpertiter zwischen $2^{-1,75}$ und $2^{-8,0}$.
6 der 7 zu Versuchsbeginn seronegativen Tiere zeigten nach 2 Impfungen eine Erhöhung der Antikörpertiter; bei 4 Impflingen war diese Erhöhung signifikant. Bei einem Tier war keine Antikörperreaktion feststellbar.
Unter den restlichen 13 Tieren fand sich nur eines mit signifikantem Titeranstieg nach 2 Impfungen.

Das Kontrolltier zeigte keine signifikante Änderung des Antikörpertiters.

Die ermittelten Einzelwerte sind in der Tabelle 14 zusammengefaßt.

Tabelle 14 Ergebnisse der serologischen Untersuchungen bei Rindern auf das Vorkommen von Antikörpern gegenüber PI-3-Virus, Reovirus Serotyp 1, BAV 3, IBR-IPV-Virus und BVD-MD-Virus nach zweimaliger Impfung mit Impfstoff "A"

Tiere	Tiernr. -Gruppe	Impfstoff, Charge	Serumbe- +) zeichnung	Serumantikörpertiter ($-\log_2$)				
				PI-3	Reo 1	BAV 3	IBR-IPV	BVD-MD
Kuh	1-3	"A" 0975	A	7	<2	3,5	≤0,5	8,25
			B	7	<2	6,5	≤0,5	9,0
			C	8	<2	6,0	2,25	9,0
			D	8	<2	5,0	1,0	9,25
Kuh	2-3		A	9	5	1,5	≤0,5	8,75
			B	9	6	2,5	≤0,5	9,5
			C	9	7	3,5	3,0	9,75
			D	9	6	3,0	3,0	9,75
Kuh	3-3		A	<2	2	4,5	≤0,5	8,75
			B	2	2	5,25	≤0,5	9,25
			C	3	2	5,5	≤0,5	9,5
			D	<2	4	4,75	≤0,5	9,5
Kuh	7-3		A	5	2	3,5	≤0,5	9,25
			B	6	2	4,25	≤0,5	8,5
			C	6	2	5,25	0,75	9,0
			D	6	<2	4,5	≤0,5	6,75
Kalb von Kuh 1-3	4-3		A	4	3	≤0,5	≤0,5	4,75
			B	4	4	1,5	≤0,5	4,5
			C	4	4	5,75	0,75	4,5
			D	3	3	5,5	≤0,5	3,5
Kalb von Kuh 2-3	5-3		A	5	5	1,5	≤0,5	6,0
			B	6	4	1,0	≤0,5	4,5
			C	5	4	5,0	1,5	3,0
			D	5	<2	4,0	1,75	3,0
Kalb von Kuh 3-3	6-3		A	<2	3	2,75	≤0,5	7,5
			B	2	2	2,5	≤0,5	6,75
			C	3	<2	1,5	≤0,5	5,75
			D	2	<2	1,5	≤0,5	5,5
Kalb von Kuh 7-3	8-3		A	4	<2	≤0,5	≤0,5	5,75
			B	3	<2	≤0,5	≤0,5	5,0
			C	3	<2	4,5	≤0,5	4,5
			D	2	<2	2,5	≤0,5	4,0

+) A: Blutentnahme vor der 1. Impfung
B: Blutentnahme vor der 2. Impfung, 4 Wochen später
C: Blutentnahme 4 Wochen nach der 2. Impfung
D: Blutentnahme 8 Wochen nach der 2. Impfung

Tabelle 14 (Forts.)

Tiere	Tiernr. -Gruppe	Impfstoff, Charge	Serumbe- +) zeichnung	Serumantikörpertiter ($-\log_2$) PI-3	Reo 1	BAV 3	IBR-IPV	BVD-MD
Jung-bulle 3 Mon.	9-4	"A" 0975	A	<2	<2	≤0,5	≤0,5	5,25
			B	3	<2	≤0,5	≤0,5	2,75
			C	3	<2	4,0	≤0,5	6,75
			D	2	<2	2,5	≤0,5	6,25
Jung-rind 3 Mon.	10-4		A	2	<2	≤0,5	≤0,5	3,5
			B	2	<2	1,75	≤0,5	4,25
			C	6	2	7,0	1,75	5,75
			D	5	<2	6,5	1,0	6,0
Jung-bulle 3 Mon.	11-4		A	3	<2	≤0,5	≤0,5	1,75
			B	2	2	1,5	≤0,5	≤0,5
			C	3	2	5,0	≤0,5	1,5
			D	3	<2	4,5	≤0,5	≤0,5
Jung-rind-er 4 Mon.	13-4		A	<2	5	≤0,5	≤0,5	≤0,75
			B	<2	5	2,75	≤0,5	≤0,5
			C	4	5	6,5	≤0,5	2,0
			D	3	5	4,75	≤0,5	2,25
	14-4		A	<2	<2	≤0,5	≤0,5	6,0
			B	<2	<2	3,5	≤0,5	5,75
			C	2	<2	6,5	≤0,5	6,5
			D	2	<2	6,25	≤0,5	6,0
	15-4		A	2	7	1,5	≤0,5	≤0,5
			B	<2	5	≤0,5	≤0,5	5,0
			C	3	4	1,75	≤0,5	4,75
			D	3	2	1,25	≤0,5	6,0
	16-4		A	<2	6	≤0,5	≤0,5	8,0
			B	2	5	4,5	≤0,5	7,0
			C	5	4	7,25	1,25	5,75
			D	4	3	6,5	0,75	5,75
	17-4		A	3	4	≤0,5	≤0,5	≤0,5
			B	<2	4	≤0,5	≤0,5	3,75
			C	<2	3	5,5	≤0,5	5,25
			D	<2	2	4,5	≤0,5	5,25
Jung-bulle 4 Mon.	18-4		A	<2	6	≤0,5	≤0,5	≤0,5
			B	<2	5	3,5	≤0,5	≤0,5
			C	3	4	5,5	≤0,5	3,0
			D	<2	2	4,5	≤0,5	2,75
Jung-rind-er 5 Mon.	19-4		A	<2	<2	≤0,5	≤0,5	6,0
			B	2	2	2,5	≤0,5	8,0
			C	4	2	4,25	1,5	7,0
			D	3	<2	2,5	≤0,5	6,75
	20-4		A	2	<2	≤0,5	≤0,5	≤0,5
			B	3	<2	≤0,5	≤0,5	≤0,5
			C	3	<2	1,5	≤0,5	≤0,5
			D	3	<2	≤0,5	≤0,5	≤0,5

Tabelle 14 (Forts.)

Tiere	Tiernr. -Gruppe	Impfstoff, Charge	Serumbe- +) zeichnung	Serumantikörpertiter ($-\log_2$) PI-3	Reo 1	BAV 3	IBR-IPV	BVD-MD
Jung-rind-er 5 Mon.	21-4	"A" 0975	A	2	3	≤0,5	≤0,5	4,0
			B	4	3	4,5	≤0,5	5,25
			C	5	3	6,75	1,25	5,0
			D	5	2	5,5	0,75	4,5
	22-4		A	<2	3	≤0,5	≤0,5	6,25
			B	<2	3	5,0	≤0,5	6,0
			C	5	2	6,75	1,75	5,75
			D	4	3	5,25	1,0	5,0
	23-4		A	<2	3	≤0,5	≤0,5	5,75
			B	<2	<2	4,25	≤0,5	6,75
			C	5	2	6,5	1,25	6,0
			D	4	<2	5,5	0,75	5,0
	24-4		A	3	<2	≤0,5	≤0,5	9,25
			B	5	2	4,5	≤0,5	9,25
			C	3	2	7,25	1,5	8,25
			D	4	3	6,25	≤0,5	9,0
Jung-bulle 5 Mon.	25-4		A	2	2	≤0,5	≤0,5	4,25
			B	3	2	3,0	≤0,5	4,5
			C	3	<2	3,5	≤0,5	3,0
			D	2	<2	2,5	≤0,5	4,25
Kälber 8 Wo. alt	26-4	"A" 0985	A	3	7	1,25	≤0,5	2,25
			B	3	6	6,25	≤0,5	1,25
			C	4	6	7,0	≤0,5	≤0,5
			D	4	4	5,5	≤0,5	≤0,5
	27-4		A	4	8	4,25	≤0,5	≤0,5
			B	3	8	8,25	≤0,5	≤0,5
			C	3	7	7,25	1,25	≤0,5
			D	3	5	6,25	1,0	1,25
	28-4		A	4	8	≤0,5	≤0,5	≤0,5
			B	5	7	6,25	≤0,5	≤0,5
			C	5	7	6,5	≤0,5	4,5
			D	4	6	5,75	0,75	6,5
	29-4		A	5	7	1,5	≤0,5	2,75
			B	5	6	4,25	≤0,5	1,25
			C	3	6	6,5	1,0	0,75
			D	3	6	5,0	≤0,5	≤0,5
Jung-bulle 3 Mon	12-4	Kontrolle unge-impft	A	3	3	≤0,5	≤0,5	3,0
			B	2	2	≤0,5	≤0,5	2,75
			C	<2	3	≤0,5	≤0,5	3,75
			D	2	2	≤0,5	≤0,5	3,75

3.2.1.3.6 Zusammenfassende Übersicht über die Antikörperreaktionen bei Rindern nach Impfung mit Impfstoff "A"

Für den Zeitpunkt der jeweiligen Blutentnahmen ist aus den Einzelergebnissen der serologischen Untersuchungen das geometrische Mittel der Antikörpertiter errechnet worden.
Nach 2 Impfungen waren die durchschnittlichen Titer der Antikörper gegenüber BAV 3 um 4,5 $\log_2$ höher als vor der 1. Impfung. Die übrigen 4 im Impfstoff "A" enthaltenen Antigene wirkten weniger gut. Die PI-3-Antikörpertiter lagen um 1,5 $\log_2$, die IBR-IPV-Titer um 0,7 $\log_2$, und die BVD-MD-Titer nur um 0,5 $\log_2$ höher. 8 Wochen nach der 2. Impfung war bei den BAV 3-, PI-3-, IBR-IPV- und BVD-MD-Antikörpertitern eine rückläufige Tendenz feststellbar (Titerabfall um 0,3 bis 1,0 $\log_2$).
Als praktisch unwirksam erwies sich die Reo 1-Komponente. Die durchschnittlichen Antikörpertiter fielen während des Versuchs kontinuierlich ab (von $2^{-3,2}$ auf $2^{-2,0}$).

Die errechneten Mittelwerte sind in der Tabelle 15 zusammengefaßt.

Tabelle 15 Geometrischer Mittelwert der Serumantikörpertiter der mit Impfstoff "A" zweimal im Abstand von 4 Wochen geimpften Rinder

Tiere	Zahl der Tiere	Impfstoff, Charge	Serumbezeichng.	+)	Serumantikörpertiter ($-\log_2$)				
					PI-3	Reo 1	BAV 3	IBR-IPV	BVD-MD
Kühe, Jungrinder, Jungbullen, Kälber	28	"A" 0975 und 0985	A	Ø	2,5	3,2	0,9	≤0,5	4,4
			B	Ø	3,0	3,0	3,3	≤0,5	4,6
			C	Ø	4,0	2,8	5,4	0,7	4,9
			D	Ø	3,4	2,0	4,4	0,4	4,6

A: Blutentnahme vor der 1.Impfung
B: Blutentnahme vor der 2.Impfung, 4 Wochen später
C: Blutentnahme 4 Wochen nach der 2.Impfung
D: Blutentnahme 8 Wochen nach der 2.Impfung

3.2.2 Impfungen von Mäusen mit den Impfstoffen "RGV", "A" und "B"

3.2.2.1 Klinische Beobachtungen nach der Impfung

Die mit den Impfstoffen "RGV", "A" und "B" geimpften Mäuse zeigten nach der Impfung ein stark gestörtes Allgemeinbefinden.
Sie nahmen vereinzelt oder zusammengedrängt eine schlafähnliche Haltung ein. Während dieser Zeit wurde weder Futter noch Wasser aufgenommen.
Ca. 4-6 Std. nach der Impfung war ihr Befinden wieder dem der ungeimpften Kontrolltiere vergleichbar.
Die s.c. geimpften Mäuse erholten sich schneller als die i.p. geimpften.

3.2.2.2 Pathologisch-anatomische und histopathologische Untersuchungen

Jeweils 2 der mit den 3 Impfstoffen geimpften Mäuse wurden einer Sektion unterzogen:

Beobachtungen nach subkutaner Impfung: An der Impfstelle in der Unterhaut konnten hirsekorn- bis stecknadelkopfgroße Knötchen von gelblich-weißer Farbe und derb-harter Konsistenz festgestellt werden. Die Größe der Knötchen stand in enger Beziehung zu dem an der entsprechenden Stelle inokulierten Impfvolumen. In den Knötchen befand sich eine trübe, gelbliche Flüssigkeit.

Beobachtungen nach intraperitonealer Impfung: Im Peritoneum und in der Milzkapsel wurden gleichartige Herde wie in der Unterhaut nach s.c. Impfung festgestellt.

Die histologische Untersuchung+) der veranderten Teile ergab folgenden Befund:

+) Herrn Prof. Dr. J. von Sandersleben, Institut für Allgemeine Pathologie und Pathologische Anatomie des Fachbereichs Tiermedizin der Universität München bedanke ich mich für die Überlassung der Untersuchungsergebnisse.

Im Zentrum der Knötchen wurden von polymorphkernigen Leukozyten durchsetzte, eosinophile Massen, teils basophiler, teils eosinophiler grobscholliger Detritus, in den Randpartien makrophagenreiches Granulationsgewebe mit teils beginnender und teils vollendeter Kapselbildung festgestellt (Resorptiosgranulome).

3.2.2.3 Bakteriologische Untersuchung

Bei der bakteriologischen Untersuchung der Knötchen konnten keine Keime nachgewiesen werden+).

3.2.2.4 Bildung von Serumantikörpern in Mäusen nach Impfung mit Impfstoff "RGV"

Zur Untersuchung kamen 4 Serumpools von Versuchsgruppen, die mit 1,25 ml (1/4 Rinderdosis) bzw. 0,5 ml (1/10 Rinderdosis) des Impfstoffes "RGV" vergleichend intraperitoneal (i.p.) bzw. subkutan (s.c.) vakziniert worden waren.
Als Kontrollen dienten die Serumpools von 2 ungeimpften Gruppen.
Die Serumpools wurden entsprechend den im Impfstoff "RGV" enthaltenen Antigenen untersucht auf das Vorkommen von Serumantikörpern gegenüber:

-Parainfluenza-3-Virus (HAH-Test),
-Reovirus Serotypen 1 und 3 (HAH-Test),
-Bovinem Adenovirus Serotypen 1, 3 und 5 (N-Test).

Zusätzlich ist das Vorkommen von Reo 2-Antikörpern (HAH-Test) untersucht worden.

3.2.2.4.1 Serumantikörper gegenüber Parainfluenza-3-Virus

Subkutane Impfung: Nach der s.c. Impfung betrug der Antikörper-

---

+) Herrn Dr. H. Schels, Institut für Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenmedizin, Fachbereich Tiermedizin, Universität München, danke ich für die Durchführung der Untersuchungen.

titer in beiden Gruppen (1,25 ml u. 0,5 ml Impfstoff) 2^{-6}.

Intraperitoneale Impfung: Die Impfung mit einer Dosis von 1,25 ml führte zu einem Antikörpertiter von 2^{-9}, während die Dosis von 0,5 ml den Titer auf 2^{-6} ansteigen ließ.

Die Serumpools der Kontrollgruppen besaßen keine Antikörper gegenüber PI-3-Virus (Antikörpertiter $<2^{-2}$).

3.2.2.4.2 Serumantikörper gegenüber Reovirus Serotyp 1

Nach subkutaner wie nach intraperitonealer Applikation der beiden verschiedenen Impfdosen stieg der Serumantikörpertiter auf 2^{-6} an. Die Kontrollgruppen-Serumpools blieben seronegativ (Ak-Titer $<2^{-2}$).

3.2.2.4.3 Serumantikörper gegenüber Reovirus Serotyp 2

Bildung heterologer Antikörper gegenüber Reovirus Serotyp 2 durch die im Impfstoff enthaltenen Reo 1- und Reo 3-Antigene konnte nicht nachgewiesen werden.

3.2.2.4.4 Serumantikörper gegenüber Reovirus Serotyp 3

Subkutane Impfung: Nach s.c. Impfung von 1,25 ml "RGV" stieg der Serumtiter auf 2^{-2}, nach Impfung von 0,5 ml auf 2^{-4} an.

Intraperitoneale Impfung: Die i.p. Impfung mit 1,25 ml "RGV" induzierte einen Antikörperanstieg auf 2^{-4}, die von 0,5 ml "RGV" ließ den Serumtiter auf 2^{-3} ansteigen.

Die Serumpools der Kontrollgruppen zeigten keinen positiven Aktiter.

3.2.2.4.5 Serumantikörper gegenüber BAV Serotyp 1

Subkutane Impfung: Der Ak-Titer stieg nach s.c. Impfung von 1,25 ml

"RGV" auf $2^{-5,5}$, nach einer Dosis von 0,5 ml auf $2^{-4,25}$ an.

Intraperitoneale Impfung: Nach i.p. Impfung von 1,25 ml "RGV" stieg der Ak-Titer auf $2^{-6,75}$, nach der Verimpfung einer Dosis von 0,5 ml auf $2^{-4,25}$ an.

Die Serumpools der Kontrolltiere blieben seronegativ.

3.2.2.4.6 Serumantikörper gegenüber BAV Serotyp 3

Subkutane Impfung: Nach s.c. Impfung der Mäuse mit 1,25 ml bzw. 0,5 ml stieg der Serumtiter auf $2^{-5,5}$ an.
Intraperitoneale Impfung: 1,25 ml "RGV" i.p. verimpft, bewirkte einen Ansteig des Ak-Titers auf $2^{-5,75}$. Bei der Verimpfung von 0,5 ml stieg der Titer nur auf $2^{-4,75}$ an.

Ungeimpfte Kontrollmäuse blieben seronegativ.

3.2.2.4.7 Serumantikörper gegenüber BAV Serotyp 5

Subkutane Impfung: Der Serumantikörpertiter der mit 1,25 ml und 0,5 ml "RGV" geimpften Mäuse stieg in beiden Gruppen auf $2^{-3,5}$ an.

Intraperitoneale Impfung: Die mit 1,25 ml i.p. geimpften zeigten einen Ak-Titer Anstieg auf $2^{-3,75}$, die mit 0,5 ml geimpften Tiere reagierten mit einem Anstieg auf $2^{-3,5}$.

In den Serumpools der Kontrolltiere wurden keine Antikörper festgestellt.

Die Antikörpertiter der mit Impfstoff "RGV" geimpften Mäuse sowie der Kontrolltiere wurden in Tabelle 16 zusammengefaßt.

3.2.2.5 Bildung von Serumantikörpern in Mäusen nach Impfung mit Impfstoff "A"

Untersucht wurden die Serumpools von 4 Versuchsgruppen, in denen

die Tiere einheitlich mit 0,5 ml (1/4 Rinderdosis) Impfstoff "A" der Chargen Nr. 0975 und Nr. 0985 subkutan bzw. intraperitoneal geimpft worden waren. Hinzu kamen die Serumpools von 2 ungeimpften Kontrollgruppen.
Die Untersuchung erstreckte sich entsprechend den im Impfstoff "A" enthaltenen Antigenen auf das Vorkommen von Serumantikörpern gegenüber:

- Parainfluenza-3-Virus (HAH-Test),
- Reovirus Serotyp 1 (HAH-Test),
- Bovinem Adenovirus Serotyp 1 (N-Test),
- IBR-IPV-Virus (N-Test),
- BVD-MD-Virus (N-Test).

Außerdem wurde das Vorkommen von Antikörpern gegenüber Reovirus der Serotypen 2 und 3 untersucht.

Zusätzlich sind die Serumpools von 2 Gruppen, die zweimal i.p. im Abstand von 21 Tagen geimpft worden waren, auf das Vorkommen von IBR-IPV- und BVD-MD-Antikörpern getestet worden.

3.2.2.5.1 Serumantikörper gegenüber Parainfluenza-3-Virus

Subkutane Impfung: Nach einmaliger s.c. Impfung mit Charge Nr. 0975 stieg der Ak-Titer auf 2^{-4}, mit der Charge Nr. 0985 auf 2^{-5} an.

Intraperitoneale Impfung: Die i.p. Impfung mit Charge Nr. 0975 bewirkte einen Ak-Anstieg auf 2^{-3}, mit Charge Nr. 0985 auf 2^{-6}.

Ungeimpfte Kontrollmäuse blieben seronegativ.

3.2.2.5.2 Serumantikörper gegenüber Reovirus Serotyp 1

Weder in den Serumpools der geimpften Mäuse noch bei ungeimpften Kontrolltieren wurden positive Serumantikörpertiter festgestellt.

3.2.2.5.3 Serumantikörper gegenüber Reovirus Serotyp 2

Das im Impfstoff enthaltene Reo 1-Antigen bewirkte keine Bildung

heterologer, gegen das Reo 2-Virus gerichteter Antikörper.

3.2.2.5.4 Serumantikörper gegenüber Reovirus Serotyp 3

Obwohl ein Reo 3-Antigen im Impfstoff "A" nicht enthalten war, konnten in den Serumpools der 4 geimpften Gruppen Antikörper zwischen 2^{-2} und 2^{-4} nachgewiesen werden.

Die Titer in den Kontrollgruppen betrugen $<2^{-2}$ bzw. 2^{-2}.

3.2.2.5.5 Serumantikörper gegenüber BAV Serotyp 3

Subkutane Impfung: Eine einmalige s.c. Impfung mit Charge Nr. 0975 bewirkte einen Ak-Anstieg auf $2^{-5,5}$, mit Charge Nr. 0985 auf $2^{-7,5}$.

Intraperitoneale Impfung: Die mit Charge Nr. 0975 i.p. geimpften Mäuse zeigten einen Ak-Ansteig auf $2^{-5,5}$, die mit Charge Nr. 0985 geimpften auf $2^{-7,25}$.

In den Serumpools der Kontrolltiere konnten keine Antikörper nachgewiesen werden.

3.2.2.5.6 Serumantikörper gegenüber IBR-IPV-Virus

Weder die einmalige noch die zweimalige subkutane bzw. intraperitoneale Impfung führte zur Produktion nachweisbarer Mengen von IBR-IPV-Antikörpern.

3.2.2.5.7 Serumantikörper gegenüber BVD-MD-Virus

BVD-MD-Antikörper waren bei keiner der Versuchsgruppen nachweisbar.

Die Antikörpertiter der mit Impfstoff "A" geimpften Mäuse und der Kontrolltiere wurden in Tabelle 16 zusammengefaßt.

3.2.2.6 Bildung von Serumantikörpern in Mäusen nach Impfung mit Impfstoff "B"

Die Untersuchung umfaßte 2 Serumpools von Mäusen, die subkutan bzw. intraperitoneal mit 0,5 ml (1/4 Rinderdosis) des Impfstoffes "B" geimpft worden waren, sowie den Serumpool einer ungeimpften Kontrollgruppe. Die Serumpools wurden entsprechend den im Impfstoff "B" enthaltenen Antigenen untersucht auf das Vorkommen von Serumantikörpern gegenüber:

- Parainfluenza-3-Virus (HAH-Test),
- Reovirus Serotyp 1 (HAH-Test),
- Bovinem Adenovirus Serotyp 3 (N-Test).

Außerdem ist das Vorkommen von Antikörpern gegenüber Reoviren der Serotypen 2 und 3 untersucht worden.

3.2.2.6.1 Serumantikörper gegenüber Parainfluenza-3-Virus

Subkutane Impfung und intraperitoneale Impfung: Nach s.c. und i.p. Impfung stieg der Antikörpertiter jeweils auf 2^{-6} an.

Die Kontrolltiere blieben seronegativ.

3.2.2.6.2 Serumantikörper gegenuber Reovirus Serotyp 1

Die subkutane Impfung blieb immunologisch unbeantwortet. Nach intraperitonealer Impfung stieg der Ak-Titer auf 2^{-6}.

Bei den Kontrollgruppen war der Ak-Titer $<2^{-2}$.

3.2.2.6.3 Serumantikörper gegenüber Reovirus Serotyp 2 und 3

Die Titer der Antikörper gegenüber Reovirus Serotypen 2 und 3 waren in beiden Versuchsgruppen und in der Kontrollgruppe negativ ($<2^{-2}$). Reovirus Serotyp 3-Antikörper konnten nur in der i.p. geimpften Gruppe mit einem Titer von 2^{-2} nachgewiesen werden.

3.2.2.6.4 Serumantikörper gegenüber BAV Serotyp 3

Subkutane Impfung: Nach s.c. Impfung stieg der Ak-Titer auf $2^{-5,5}$.

Intraperitoneale Impfung: Die i.p. Impfung bewirkte einen Anstieg der Serumantikörper auf $2^{-6,5}$.

Die ungeimpften Kontrollmäuse blieben seronegativ.

Die Antikörpertiter der mit Impfstoff "B" geimpften Mäuse sowie der Kontrollmäuse wurden in Tabelle 16 zusammengefaßt.

3.2.2.7 Bildung von Serumantikörpern in Mäusen nach Inokulation vermehrungsfähiger Virusarten

Zur Kontrolle der antikörperstimulierenden Wirksamkeit von Virusarten, die in den Impfstoffen "RGV", "A" und "B" in inaktivierter Form enthalten sind, wurden Mäuse mit den entsprechenden vermehrungsfähigen Virusarten geimpft, und zwar je einmal, in parallel laufenden Versuchen subkutan bzw. intraperitoneal.
Die Serumpools der Versuchsgruppen wurden 21 Tage nach der Impfung auf Antikörper gegenüber dem jeweiligen Impfvirus untersucht.
Die Untersuchung von Serumpools ungeimpfter Kontrollmäuse auf entsprechende Antikörper wurde in gleicher Weise durchgeführt.
In diesen Versuch sind einbezogen worden:

- Parainfluenza-3-Virus,
- Reovirus Serotypen 1, 2 und 3,
- BAV Serotypen 1, 3 und 5,
- IBR-IPV-Virus und
- BVD-MD-Virus.

In zwei ergänzenden Versuchen wurden Mäuse mit IBR-IPV- bzw. BVD-MD-Virus zweimal im Abstand von 21 Tagen geimpft und die Serumpools der beiden Gruppen auf homologe Antikörper untersucht.

Tabelle 16 Ergebnisse der serologischen Untersuchungen an Mäusen auf das Vorkommen von Antikörpern gegenüber PI-3-Virus, Reovirus Serotypen 1, 2 und 3, BAV 1, 3 und 5, IBR-IPV-Virus und BVD-MD-Virus nach einmaliger Impfung mit Impfstoff "RGV" und "B", sowie ein- und zweimaliger Impfung mit Impfstoff "A"

Inokulum Charge	Dosis	Art der Impfung	Serumantikörpertiter ($-\log_2$)								
			PI-3	Reo 1	Reo 2+)	Reo 3	BAV 1	BAV 3	BAV 5	IBR-IPV	BVD-MD
Kontrolle ungeimpft			<2	<2	<2	<2	≤0,5	≤0,5	≤0,5	++)	++)
"RGV" 8	1,25 ml	s.c.	6	6	<2	2	5,5	5,5	3,5		
"RGV" 8	1,25 ml	i.p.	9	6	<2	4	6,75	5,75	3,75		
Kontrolle ungeimpft			<2	<2	<2	<2	≤0,5	≤0,5	≤0,5		
"RGV" 8	0,5 ml	s.c.	6	6	<2	4	4,25	5,5	3,5	++)	++)
"RGV" 8	0,5 ml	i.p.	6	6	<2	3	4,25	4,75	3,0		
Kontrolle ungeimpft			<2	<2	<2	<2	++)	≤0,5	++)	≤0,5	≤0,5
"A" 0975	0,5 ml	s.c.	4	<2	<2	2		5,5		≤0,5	≤0,5
"A" 0975	0,5 ml	i.p.	3	<2	<2	3		5,5		≤0,5	≤0,5
Kontrolle ungeimpft			<2	<2	<2	2	++)	≤0,5	++)	≤0,5	≤0,5
"A" 0985	0,5 ml	s.c.	5	<2	<2	2		7,5		≤0,5	≤0,5
"A" 0985	0,5 ml	i.p.	6	<2	<2	4		7,25		≤0,5	≤0,5
"A" 0-12	0,5 ml	i.p.	2 x geimpft, im Abstand von 3 Wochen, Blutentnahme 1 Woche nach der 2. Impfung							≤0,5	≤0,5
Kontrolle ungeimpft			<2	<2	<2	<2	++)	≤0,5	++)	++)	++)
"B" 30	0,5 ml	s.c.	6	<2	<2	<2		5,5			
"B" 30	0,5 ml	i.p.	6	6	<2	2		6,5			

+) Antigen im Impfstoff nicht enthalten, Serum auf Antikörperbildung untersucht.
++) Antigen im Impfstoff nicht enthalten, Serum auf Antikörperbildung nicht untersucht.

3.2.2.7.1 Serumantikörper gegenüber Parainfluenza-3-Virus

Nach subkutaner Impfung hatte der Serumpool einen Antikörpertiter von 2^{-2} und nach
intraperitonealer Impfung einen Titer von 2^{-5}.

Das Serum der Kontrolltiere reagierte negativ.

3.2.2.7.2 Serumantikörper gegenüber Reoviren

Die vermehrungsfähigen Reoviren der Serotypen 1, 2 und 3 sind nur intraperitoneal appliziert worden.
Den höchsten Antikörpertiter (2^{-9}) erreichten die mit Reo 1 geimpften Mäuse.
Die mit Reo 2 inokulierten Mäuse hatten einen Titer homologer Antikörper von 2^{-7}, und bei der mit Reo 3-Virus behandelten Gruppe war der entsprechende Wert 2^{-6}.

In den Kontrollgruppen waren die Titer gegenüber Reo 1- und Reo 2-Virus negativ ($<2^{-2}$), gegenüber Reo 3 war der Titer 2^{-2}.

3.2.2.7.3 Serumantikörper gegenüber bovinen Adenoviren

Nach Inokulation von BAV 1 hatten die Mäuse Antikörpertiter von $2^{-2,5}$ (s.c.Impfung) bzw. $2^{-2,0}$ (i.p.Impfung).

Wesentlich besser reagierten die Mäuse auf die Impfung mit BAV 3 und BAV 5:
Gegenüber BAV 3 zeigten die Mäuse Antikörpertiter von $2^{-4,5}$ (s.c.Impfung) bzw. 2^{-7} (i.p.Impfung), und die Titer der BAV 5-Antikörper betrugen $2^{-3,75}$ (s.c.Impfung) bzw. $2^{-4,25}$ (i.p.Impfung).

In den Serumpools der 3 Kontrollgruppen waren BAV 1-, BAV 3- und BAV 5-Antikörper nicht nachweisbar (Titer $\leq 2^{-0,5}$).

3.2.2.7.4 Serumantikörper gegenüber IBR-IPV-Virus

Nach einmaliger subkutaner oder intraperitonealer Inokulation von

vermehrungsfähigem IBR-IPV-Virus waren bei Mäusen keine Antikörper feststellbar.
Der Serumpool der zweimal geimpften Mäuse hatte dagegen einen Antikörpertiter von $2^{-3,0}$.

Das Serum der Kontrollgruppen reagierte negativ.

3.2.2.7.5 Serumantikörper gegenüber BVD-MD-Virus

Weder auf die einmalige subkutane oder intraperitoneale, noch auf die zwe malige intraperitoneale Impfung mit BVD-MD-Virus reagierten die Mäuse mit der Bildung nachweisbarer Mengen von BVD-MD-Antikörpern.
Die Antikörpertiter waren, wie in den Kontrollgruppen $\leq 2^{-0,5}$.

Die Ergebnisse der serologischen Untersuchungen bei Mäusen nach Inokulation von vermehrungsfähigen Virusarten sind in der Tabelle 17 zusammengestellt.

Tabelle 17 Ergebnisse der serologischen Untersuchungen bei Mäusen auf das Vorkommen von Antikörpern gegenüber PI-3-Virus, Reoviren der Serotypen 1, 2 und 3, BAV 1, 3 und 5, IBR-IPV-Virus und BVD-MD-Virus nach Inokulation vermehrungsfähiger Virusarten

Impfdaten	Inokulum und Infektiositätstiter	Serumantikörpertiter (-log)	
		Nach 1 Impfg.	Nach 2 Impfg.
s.c., 0,1 ml	PI-3-Virus $10^{7,5}$ KID_{50}/0,1 ml	2	+)
i.p., 0,1 ml	PI-3-Virus $10^{7,5}$ KID_{50}/0,1 ml	5	
i.p., 0,1 ml	Reo 1-Virus $10^{7,0}$ KID_{50}/0,1 ml	9	+)
i.p., 0,1 ml	Reo 2-Virus $10^{5,25}$ KID_{50}/0,1 ml	7	+)
i.p., 0,1 ml	Reo 3-Virus $10^{6,75}$ KID_{50}/0,1 ml	6	+)
s.c., 0,1 ml	BAV 1 $10^{5,75}$ KID_{50}/0,1 ml	2,5	+)
i.p., 0,1 ml	BAV 1 $10^{5,75}$ KID_{50}/0,1 ml	2,0	
s.c., 0,1 ml	BAV 3 $10^{4,25}$ KID_{50}/0,1 ml	4,5	+)
i.p., 0,1 ml	BAV 3 $10^{4,25}$ KID_{50}/0,1 ml	7,0	
s.c., 0,1 ml	BAV 5 $10^{5,25}$ KID_{50}/0,1 ml	3,75	+)
i.p., 0,1 ml	BAV 5 $10^{5,25}$ KID_{50}/0,1 ml	4,25	
s.c., 0,1 ml	IBR-IPV-Virus $10^{7,0}$ KID_{50}/0,1 ml	≤0,5	
i.p., 0,1 ml	IBR-IPV-Virus $10^{7,0}$ KID_{50}/0,1 ml	≤0,5	
i.p., 0,1 ml	IBR-IPV-Virus $10^{5,25}$ KID_{50}/0,1 ml		3,0
s.c., 0,1 ml	BVD-MD-Virus $10^{5,25}$ KID_{50}/0,1 ml	≤0,5	
i.p., 0,1 ml	BVD-MD-Virus $10^{5,25}$ KID_{50}/0,1 ml	≤0,5	
i.p., 0,1 ml	BVD-MD-Virus $10^{6,5}$ KID_{50}/0,1 ml		≤0,5

+) nicht untersucht

3.2.3 Vergleichende Betrachtung der Wirksamkeit der Impfstoffe "RGV", "A" und "B" in Rindern und Mäusen

Für die vergleichende Betrachtung der Wirksamkeit der Impfstoffe "RGV", "A" und "B" in geimpften Rindern und Mäusen hinsichtlich der Frage, in welchem Maße Mäuse als heterologe Versuchstiere bei der vergleichenden Wirksamkeitsbestimmung von Rindergrippevakzinen eingesetzt werden können, sind die in den Kapiteln 3.2.1.2.8 und 3.2.1.3.6 sowie 3.2.2.4 bis 3.2.2.7 erwähnten Ergebnisse graphisch dargestellt worden.
Dabei wurde der Verlauf der bei den Rindern ermittelten Serumantikörpertiter (geometrisches Mittel) den bei den Mäusen mit 1/4 Rinderdosis erzielten postvakzinalen Ak-Titern gegenübergestellt.
Der Vergleich der Wirksamkeit von Impfstoff "B" mit jener der Impfstoffe "RGV" und "A" erfolgte lediglich anhand der bei den Mäusen gewonnenen Ergebnisse.
Zum Vergleich sind die Werte der in den Serumpools der Mäuse ermittelten Ak-Titern nach Inokulation von vermehrungsfähigem Virus aufgezeichnet worden.

In den Abbildungen 1 bis 6 wird die jeweilige Immunantwort auf die PI-3-, Reo 1-, Reo 3-, BAV 1-, BAV 3- und BAV 5-Komponente einzeln dargestellt.

Für die IBR-IPV- und BVD-MD-Komponenten fand dieser Ak-Titervergleich keine Anwendung, da die mit Impfstoff "A" geimpften Mäuse keine Antikörper gegenüber IBR-IPV- bzw. BVD-MD-Virus bildeten, und die einmalige Inokulation von entsprechendem vermehrungsfähigem Virus bei der Maus keine Antikörperbildung zur Folge hatte.

Vom Impfstoff "A" bewirkte die Charge Nr. 0985 bei den Mäusen gegenüber den zum Vergleich stehenden Ag-Komponenten, -außer gegenüber Reovirus Serotyp 1, wobei sich beide Chargen gleich uneffektiv erwiesen-, immer einen höheren Ak-Titer als die Charge Nr. 0975. Da jedoch beträchtlich mehr Rinder (24 mit Charge Nr.0975, 4 mit Charge Nr.0985) mit der Charge Nr. 0975 geimpft wurden, blieben bei der vergleichenden Betrachtung (Rind-Maus) die Einzelergebnisse der mit Charge Nr. 0985 geimpften Mäuse unberücksichtigt.

3.2.3.1 Wirksamkeit der Impfstoffe "RGV", "A" und "B" gegenüber Parainfluenza-3-Virus

3.2.3.1.1 Impfstoff "RGV"

Der relative Ak-Anstieg der mit Impfstoff "RGV" geimpften Rinder gegenüber PI-3-Virus betrug 4 Wochen nach der 1. Impfung 3,9 $\log_2$ und stieg 4 Wochen nach der 2. Impfung um weitere 0,7 $\log_2$ an. Dem relativen Ak-Gesamtanstieg von 4,6 $\log_2$ steht bei den s.c. geimpften Mäusen ein postvakzinaler Ak-Titer von 6,0 $\log_2$, bzw. bei den i.p. geimpften ein Ak-Titer von 9,0 $\log_2$ gegenüber.

Der R-M-Quotient+) beträgt demnach 1:1,3 bzw. 1:2,0.

3.2.3.1.2 Impfstoff "A"

Der relative Anstieg der Antikörper gegenüber PI-3-Virus nach der Impfung der Rinder mit Impfstoff "A" betrug 4 Wochen nach der 1. Impfung 0,5 $\log_2$, 4 Wochen nach der 2. Impfung weitere 1,0 $\log_2$. Diesem relativen Gesamtantikörperanstieg von 1,5 $\log_2$ steht auch eine geringere Ak-Bildung bei den mit Impfstoff "A" s.c. bzw. i.p. geimpften Mäusen gegenüber (4,0 bzw. 3,0 $\log_2$).
Die Ak-Titer differierten nach s.c. bzw. i.p. Impfung um 1,0 $\log_2$ und lagen um 2,0 $\log_2$ bzw. 6,0 $\log_2$ unter den durch Impfstoff "RGV" erzielten Werten.

Der R-M-Quotient beträgt 1:2,7 bzw. 1:2,0.

3.2.3.1.3 Impfstoff "B"

Impfstoff "B" bewirkte in Mäusen, s.c. und i.p. verimpft (6,0, 6,0 $\log_2$), geringere Ak-Bildung gegenüber PI-3-Virus als "RGV" i.p., die gleiche Immunantwort wie "RGV" s.c. und eine stärkere Ak-Bildung als nach Impfungen mit Impfstoff "A".

+) R-M (Rind-Maus)-Quotient: Verhältnis zwischen dem geometrischen Mittelwert boviner Serumantikörper (Divisor) und absolutem Anstieg muriner Serumantikörper (Dividend).

3.2.3.2 Wirksamkeit der Impfstoffe "RGV", "A" und "B" gegenüber Reovirus Serotyp 1

3.2.3.2.1 Impfstoff "RGV"

Ein- bzw. zweimalige Impfung der Rinder mit Impfstoff "RGV" bewirkte relative Ak-Titeranstiege um 1,9 bzw. 2,6 $\log_2$.
Subkutane sowie intraperitoneale Impfung der Mäuse bewirkte Ak-Titeranstiege von jeweils 6,0 $\log_2$.

Der R-M-Quotient beträgt somit für beide Impfarten 1:2,3.

3.2.3.2.2 Impfstoff "A"

Die geometrischen Mittelwerte der bei den mit Impfstoff "A" geimpften Rindern ermittelten Serumantikörpertiter gegenüber Reovirus Serotyp 1 zeigten während des Versuchszeitraumes eine stetig fallende Tendenz.
Diese geringe bzw. bei der Mehrzahl der geimpften Rinder fehlende antikörperstimulierende Wirkung der Reo 1-Komponente in Impfstoff "A" fand bei der Untersuchung der Mäuseseren ihre Bestätigung.
Die Mäuse bildeten nach der Impfung keine spezifischen Antikörper.

3.2.3.2.3 Impfstoff "B"

Die Verimpfung von Impfstoff "B" in Mäusen brachte insofern widersprüchliche Ergebnisse, als die s.c. Impfung immunologisch unbeantwortet blieb, jedoch nach i.p. Impfung der Ak-Titer auf denselben Wert (2^{-6}) anstieg wie nach der Anwendung von Impfstoff "RGV".

3.2.3.3 Wirksamkeit des Impfstoffes "RGV" gegenüber Reovirus Serotyp 3

Der relative Anstieg der Ak-Titer gegenüber Reo 3-Virus nach zwei-

maliger Impfung mit Impfstoff "RGV" betrug bei den Rindern 1,8 $\log_2$. Bei den Mäusen war die Immunantwort entsprechend gering; nach s.c. bzw. i.p. Impfung stieg der Ak-Titer um 2,0 bzw. 4,0 $\log_2$ an.

Das ergibt einen R-M-Quotienten von 1:1,1 bzw. 1:2,2.

3.2.3.4 Wirksamkeit des Impfstoffes "RGV" gegenüber BAV Serotyp 1

4 Wochen nach der 1. Impfung von Rindern mit Impfstoff "RGV" stieg der Ak-Titer gegenüber BAV 1-Virus um 3,1 $\log_2$ bzw. 4 Wochen nach der 2. Impfung um weitere 1,1 $\log_2$ an.
Diesem relativen Gesamtanstieg des Ak-Titers bei den Rindern von 4,2 $\log_2$ steht bei den s.c. geimpften Mäusen ein postvakzinaler Anstieg der Ak-Titer von 5,5 $\log_2$ und bei den i.p. geimpften Mäusen ein Anstieg von 6,5 $\log_2$ gegenüber.

Daraus folgt ein R-M-Quotient von 1:1,3 bzw. 1:1,6.

3.2.3.5 Wirksamkeit der Impfstoffe "RGV", "A" und "B" gegenüber BAV Serotyp 3

3.2.3.5.1 Impfstoff "RGV"

Die BAV 3-Komponente des Impfstoffes "RGV" bewirkte in den geimpften Rindern einen relativen Anstieg spezifischer Antikörper um 2,5 $\log_2$ (4 Wochen nach der 1.Impfung) bzw. um 3,6 $\log_2$ (4 Wochen nach der 2.Impfung).
Der Ak-Titer in den Mäuseseren war nach der Impfung um 5,5 $\log_2$ (s.c.geimpft) bzw. 5,75 $\log_2$ (i.p.geimpft) angestiegen.

Der R-M-Quotient ergibt somit Werte von 1:1,5 bzw. 1:1,6.

3.2.3.5.2 Impfstoff "A"

Bei den mit Impfstoff "A" geimpften Rindern stieg der Ak-Titer

gegenüber BAV 3-Virus nach 2 Impfungen um insgesamt 4,5 log_2 an. Die Tiere zeigten zwar einen um 0,9 log_2 höheren maximalen Anstieg (r ⊥) der Antikörpertiter als die mit Impfstoff "RGV" geimpften Tiere, doch lag der Ausgangstiter der "RGV-Gruppen" um 1,7 log_2 höher.
Die Mäuse reagierten auf die s.c. bzw. i.p. Impfung mit Ak-Titeranstiegen von 5,5 log_2.

Daraus resultiert ein R-M-Quotient von 1:1,2.

Die nach s.c. bzw. i.p. Impfung der Mäuse mit den Impfstoffen "RGV" und "A" erzielten Ak-Titer differierten lediglich um 0,25 log_2, wodurch die in den Rindern beobachtete nahezu gleiche Wirksamkeit der BAV 3-Komponente in den Impfstoffen "RGV" und "A" auch in den Mäusen nachgewiesen werden konnte.

3.2.3.5.3 Impfstoff "B"

Die subkutane Impfung von Mäusen mit Impfstoff "B" bewirkte einen Ak-Titeranstieg, der mit denen, die nach Anwendung von "RGV" bzw. "A" erzielt wurden, identisch war (5,5 log_2).
Die Immunantwort nach i.p. Impfung von Mäusen (6,5 log_2) übertraf die der Impfstoffe "RGV" und "A" um 0,75 log_2 bzw. 1,0 log_2.

3.2.3.6 Wirksamkeit des Impfstoffes "RGV" gegenüber BAV Serotyp 5

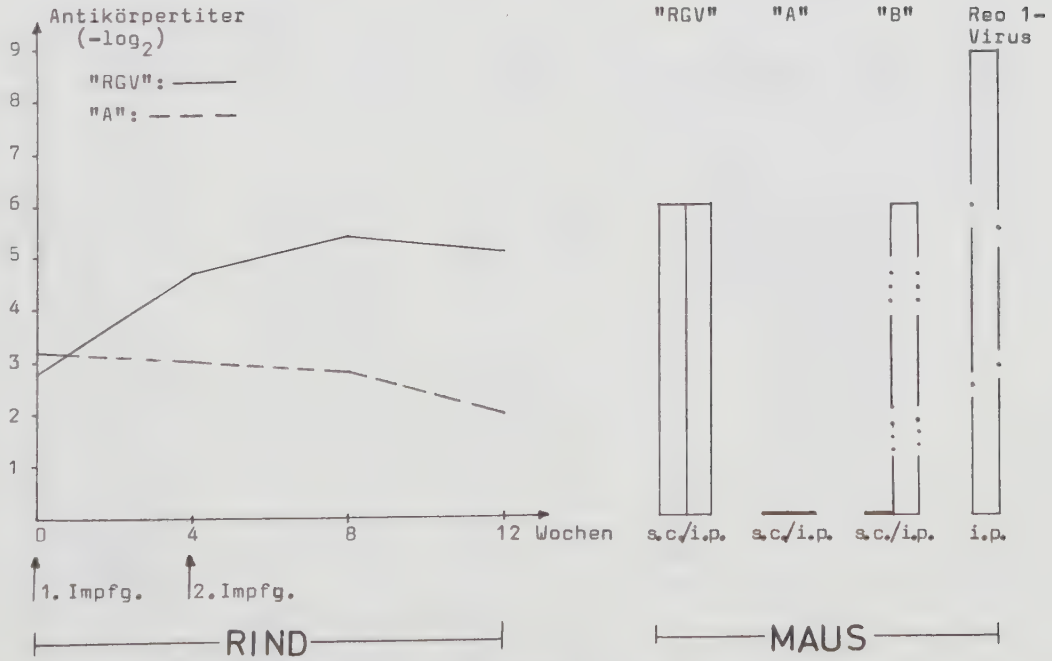
Die BAV 5-Komponente im Impfstoff "RGV" bewirkte nach 2 Impfungen in Rindern eine Erhöhung des spezifischen Ak-Titers um insgesamt 5,3 log_2.
Die Mäuse reagierten nach der Impfung vergleichsweise gering. S.c. bzw. i.p. Impfung ließ den Ak-Titer auf 3,5 bzw. 3,75 log_2 ansteigen. In diesem Fall übertrifft der relative Ak-Anstieg bei den Rindern nach 2 Impfungen den der Mäuse um 1,8 bzw. 1,55 log_2.

Der R-M-Quotient ergibt demnach 1:0,7 für beide Inokulationsarten.

Abbildung 1 Bildung von Serumantikörpern gegenüber Parainfluenza-3-Virus beim Rind und bei der Maus nach Inokulation von Impfstoff "RGV", "A" und "B", sowie vermehrungsfähigem Parainfluenza-3-Virus in der Maus

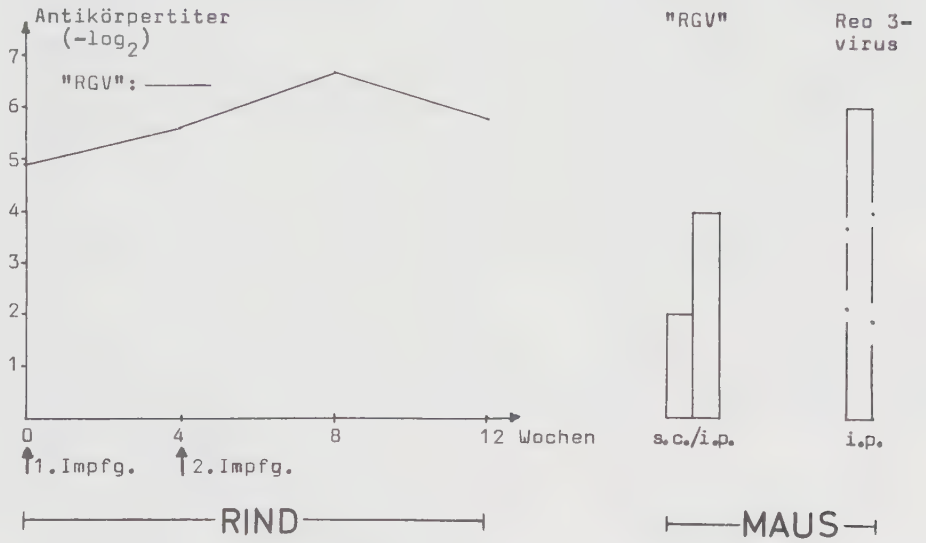
Inokulation: s.c.: subkutan
i.p.: intraperitoneal

Abbildung 2 Bildung von Serumantikörpern gegenüber Reovirus Serotyp 1 beim Rind und bei der Maus nach Inokulation von Impfstoff "RGV", "A" und "B", sowie vermehrungsfähigem Reovirus Serotyp 1 in der Maus



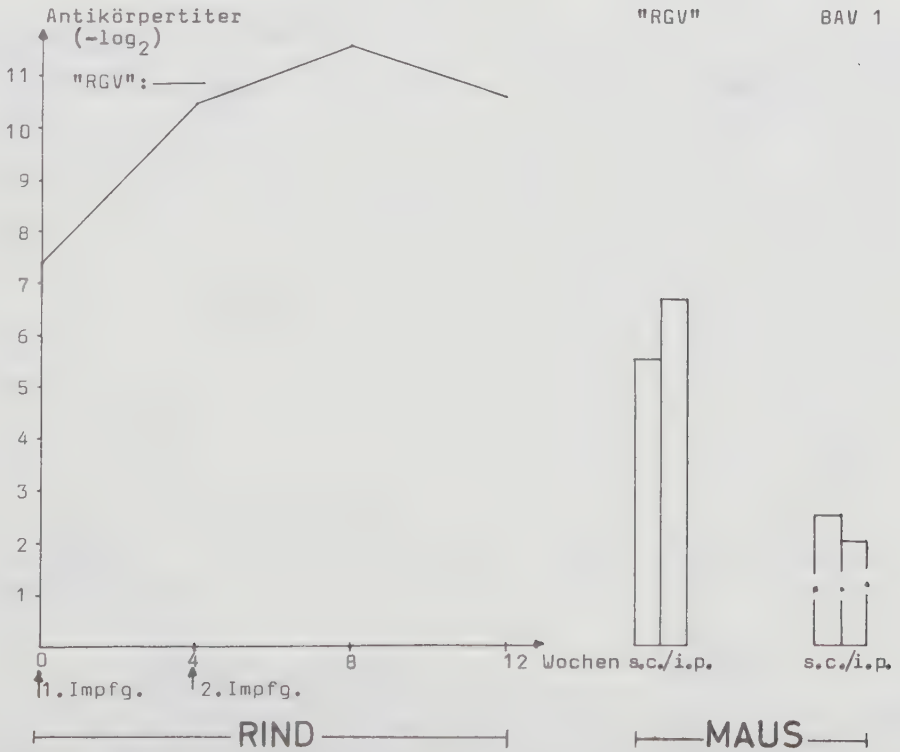
Inokulation: s.c.: subkutan
i.p.: intraperitoneal

Abbildung 3 Bildung von Serumantikörpern gegenüber Reovirus Serotyp 3 beim Rind und bei der Maus nach Inokulation von Impfstoff "RGV", sowie vermehrungsfähigem Reovirus Serotyp 3 in der Maus



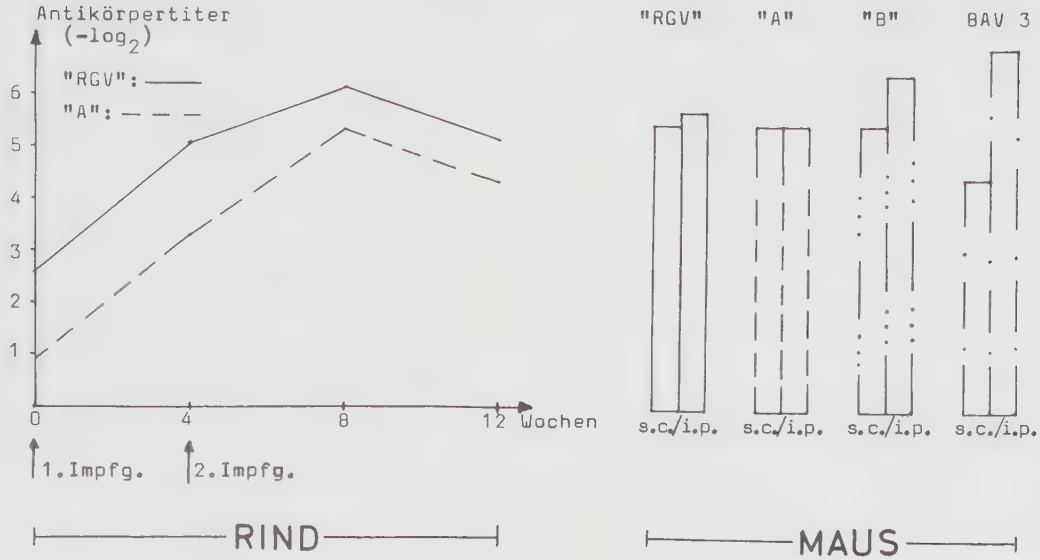
Inokulation: s.c.: subkutan
i.p.: intraperitoneal

Abbildung 4 Bildung von Serumantikörpern gegenüber BAV Serotyp 1 beim Rind und bei der Maus nach Inokulation von Impfstoff "RGV", sowie vermehrungsfähigem BAV Serotyp 1 in der Maus



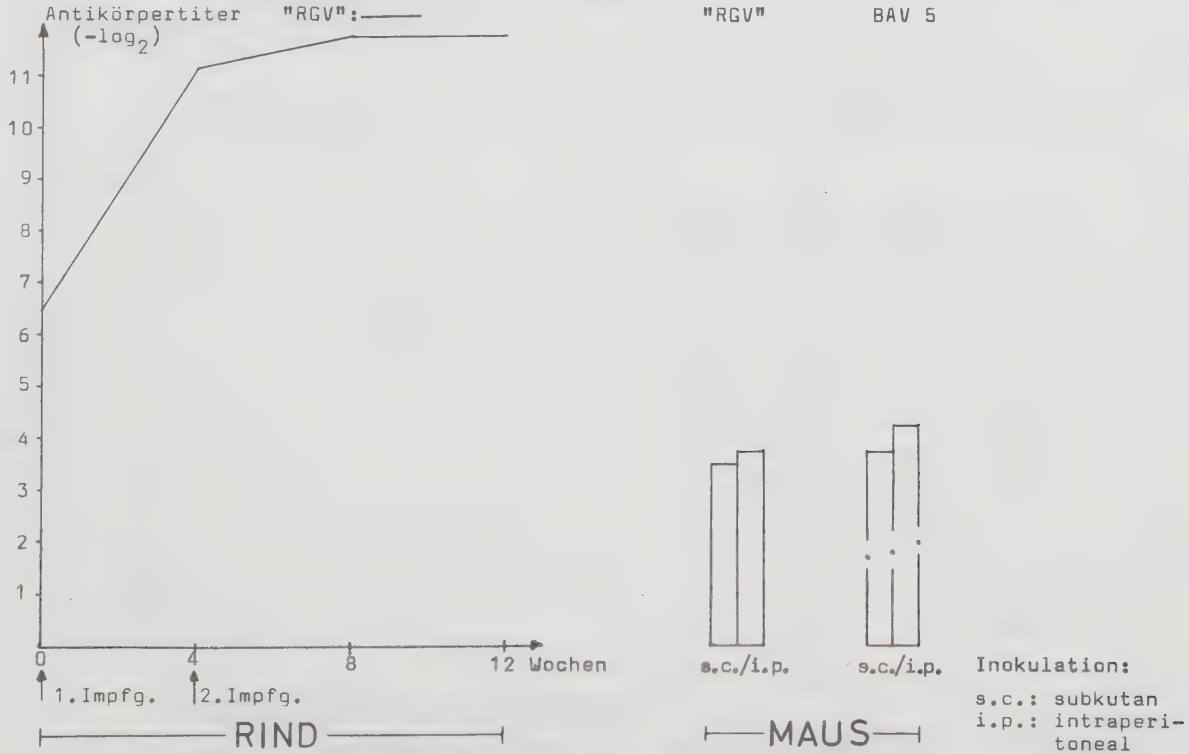
Inokulation: s.c.: subkutan
i.p.: intraperitoneal

Abbildung 5 Bildung von Serumantikörpern gegenüber BAV Serotyp 3 beim Rind und bei der Maus nach Inokulation von Impfstoff "RGV", "A" und "B", sowie vermehrungsfähigem BAV Serotyp 3 in der Maus



Inokulation: s.c.: subkutan
i.p.: intraperitoneal

Abbildung 6 Bildung von Serumantikörpern gegenüber BAV Serotyp 5 beim Rind und bei der Maus nach Inokulation von Impfstoff "RGV", sowie vermehrungsfähigem BAV Serotyp 5 in der Maus



3.2.4 R-M-Quotienten für die vergleichende Wirksamkeitsbestimmung von Rindergrippeimpfstoffen in Rindern und Mäusen

Die bei der vergleichenden Betrachtung der Antikörperbildung gegenüber den einzelnen Antigenkomponenten bei Rindern und Mäusen, nach Impfungen mit den Rindergrippeimpfstoffen "RGV" und "A" ermittelten R-M-Quotienten wurden in Tabelle 18 zusammengefaßt.
Sie stellen das Verhältnis zwischen dem relativen Anstieg boviner Serumantikörper (geometrischer Mittelwert) gegenüber den in den Impfstoffen enthaltenen Antigenkomponenten und dem absoluten Antikörperanstieg muriner Serumpoolantikörper nach der Impfung der Tiere mit den Impfstoffen "RGV" und "A" dar.

Tabelle 18 R-M-Quotienten für die vergleichende Wirksamkeitsbestimmung von Rindergrippeimpfstoffen in Rindern und Mäusen

Antigen-komponente	Impfstoff "RGV"		Impfstoff "A"	
	s.c.Impfung+)	i.p.Impfung++)	s.c.Impfung	i.p.Impfung
PI-3	1:1,3	1:2,0	1:2,7	1:2,0
Reo 1	1:2,3	1:2,3	+++)	+++)
Reo 3	1:1,1	1:2,2	++++)	++++)
BAV 1	1:1,3	1:1,6	++++)	++++)
BAV 3	1:1,5	1:1,6	1:1,2	1:1,2
BAV 5	1:0,7	1:0,7	++++)	++++)

+) postvakzinaler Ak-Titeranstieg Rind : Maus, s.c.geimpft
++) postvakzinaler Ak-Titeranstieg Rind : Maus, i.p.geimpft
+++) kein Korrelationswert herstellbar
++++) Antigen im Impfstoff nicht enthalten

4. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

Die gewohnte Praxis der Wirksamkeitsprüfung von Impfstoffen im homologen Wirtssystem ist bei Rindergrippeimpfstoffen aus verschiedenen Gründen problematisch.
Benützt man dafür seronegative Tiere, deren Beschaffung nicht nur außerordentlich schwierig, sondern auch äußerst kostspielig ist, so kommt man mitunter zu eindrucksvollen Ergebnissen (354, 175,111,178,353,346,45). Die Aussagekraft solchermaßen gewonnener Ergebnisse für die tatsächliche Wirksamkeit des Impfstoffes unter Praxisbedingungen ist jedoch begrenzt, denn die Population, bei der der Impfstoff letzlich zum Einsatz kommt und sich bewähren muß, besitzt in aller Regel einen sehr heterogenen Immunstatus: heterogen bezüglich der Qualität (Antigenspezifität der Antikörper; passiv bzw. aktiv erworben) und auch der Quantität (Höhe der Antikörpertiter).

Kompliziert wird die Situation außerdem noch durch die Zusammensetzung von Rindergrippeimpfstoffen: es handelt sich dabei um Kombinationsvakzinen, die mehrere verschiedene Antigene enthalten. Bei Wirksamkeitsprüfungen im Rind unter praxisnahen Bedingungen wird man deshalb immer in Kauf nehmen müssen, daß einzelne, vielleicht sogar alle für die Prüfung eines Impfstoffes herangezogenen Tiere gegenüber einem oder mehreren im Impfstoff enthaltenen Antigenen bereits Antikörper besitzen, deshalb nur eine geringe serologisch nachweisbare immunologische Reaktion zeigen und damit eine schlechte Wirksamkeit des Impfstoffes vortäuschen.
Das unterschiedliche biologische Verhalten von Rindern bezüglich ihrer immunologischen Reaktion kam bei den vorliegenden Untersuchungen deutlich zum Ausdruck. So konnte bei den Impflingen Nr. 10-4, 24-4, 28-4 (geimpft mit Impfstoff "A"), 32-1, 37-1 und 44-2 (geimpft mit Impfstoff "RGV") nach der Impfung gegenüber einer oder mehreren Antigenkomponenten eine überdurchschnittlich gute Antikörperbildung beobachtet werden.
Andererseits wurden auch "schlechte Immunitätsbildner" erkannt: Impflinge Nr. 6-3, 20-4, 25-4 (geimpft mit Impfstoff "A") und 33-1

(geimpft mit Impfstoff "RGV").
Da unterduchschnittliche Immunreaktionen hauptsächlich bei jüngeren und mit Impfstoff "A" geimpften Tieren beobachtet wurden, spielt hier neben einer geringeren Wirksamkeit des Impfstoffes "A" die immunsuppressorische Wirkung der bei jüngeren Tieren vermehrt vorhandenen maternalen Antikörper eine in die Betrachtung mit einzubeziehende Wirkung.
Solche Gegebenheiten mögen dazu führen, daß die tatsächliche Wirksamkeit einzelner Impfstoffkomponenten nur schwierig und mit Vorbehalt beurteilt werden können.

Alle diese Überlegungen machen die Suche nach einem geeigneten Verfahren für die Wirksamkeitsprüfung von Rindergrippeimpfstoffen notwendig.
Ein derartiges Prüfverfahren muß nicht nur objektive Rückschlüsse auf die tatsächliche Wirksamkeit der Impfstoffe in der Praxis zulassen, es soll darüber hinaus technisch leicht durchführbar und wirtschaftlich tragbar sein.
Mit den vorliegenden Untersuchungen sollte geklärt werden, ob sich die weiße Maus für eine Wirksamkeitsprüfung von Rindergrippeimpfstoffen verwenden läßt.
Grundsätzlich schien dies möglich, nachdem von anderen Autoren (107,320,357) bereits über die Fähigkeit weißer Mäuse, Antikörper gegenüber PI-3-Virus, bovinem Adenovirus Serotyp 3 und Reovirus Serotyp 1 zu bilden, berichtet worden war.
In eigenen Versuchen mit vermehrungsfähigen bovinen Adenoviren der Serotypen 1, 3 und 5, Reoviren der Serotypen 1, 2 und 3 sowie PI-3-Virus konnten diese Ergebnisse bestätigt und ergänzt werden.
Die Grundvoraussetzung für Wirksamkeitsprüfungen von Rindergrippeimpfstoffen in der weißen Maus, nämlich ihre Fähigkeit, gegenüber den bei der Rindergrippe wichtigsten mitbeteiligten Virusarten (371) Antikörper zu bilden, war damit gegeben.
Dagegen ist die weiße Maus nicht bzw. geringgradig geeignet für Wirksamkeitsprüfungen von BVD-MD- und IBR-IPV-Komponenten in Impfstoffen (z.B. Impfstoff "A"), da gegenüber diese Antigene Antikörper nicht bzw. nur in sehr geringem Umfang gebildet wurden.

Freilich ist dies von untergeordneter Bedeutung, wenn man berücksichtigt, daß BVD-MD-Virus ebenso wie IBR-IPV-Virus Erreger eigenständiger Infektionskrankheiten, nicht jedoch als Erreger der Rindergrippe anzusehen sind (371) und deshalb entsprechende Antigene in Rindergrippeimpfstoffen nicht zwangsläufig enthalten sein müssen.

Für die vergleichende Wirksamkeitsprüfung der Impfstoffe sind parallel Rinder und Mäuse mit 2 verschiedenen Impfstoffen ("RGV" und "A" vakziniert worden. Die Prüfung eines dritten Impfstoffes ("B") konnte nur in der Maus erfolgen, da die verfügbare Impfstoffmenge für Rinderversuche nicht ausreichte.
Basis für die Bewertung der Wirksamkeit der Impfstoffe war ihre antikörperstimulierende Potenz in den Impflingen, für den direkten Rind-Maus-Vergleich die Mittelwerte der Antikörpertiter bei Rindern und die Antikörpertiter der Mäuse-Serumpools nach der Impfung.

Die Versuche ergaben, daß die weiße Maus für die Prüfung von Rindergrippeimpfstoffen gut geeignet ist. Die Untersuchungsergebnisse lassen folgende Schlußfolgerungen zu:

1.) Die weiße Maus ist in der Lage, gegenüber den wichtigsten, in Rindergrippeimpfstoffen enthaltenen Antigenen mit der Bildung serologisch nachweisbarer Antikörper zu reagieren. Bei der praktischen Impfstoffprüfung ist die intraperitoneale Impfung einer subkutanen Impfung vorzuziehen, da nach subkutaner Applikation der Impfstoffe die daraus resultierenden Resorptionsgranulome die Resorption des Inokulums beeinträchtigen und so zu verfälschten Ergebnissen führen können.
2.) Es besteht eine direkte quantitative Beziehung zwischen den serologisch nachweisbaren Immunreaktionen von Rind und Maus. So fand z.B. die bessere Wirksamkeit der PI-3-Komponente im Impfstoff "RGV" beim Rind ihre Bestätigung durch eine ebenfalls bessere Wirkung in der Maus.
Das gleiche Bild ergibt der direkte Rind-Maus-Vergleich bezüglich der Reo 1-Komponenten in diesen beiden Impfstoffen. Hier erwies sich der Impfstoff "A" als praktisch wirkungslos und hatte auch in der Maus keine Antikörperreaktion zu Folge.

Im Gegensatz dazu wurde die gute Wirksamkeit der Reo 1-Komponente des Impfstoffs "RGV" durch die Impfergebnisse bei Mäusen bestätigt.

Die BAV 3-Komponenten der Impfstoffe "RGV" und "A" waren in Mäusen gleich gut wirksam. Die bei Rindern mit dem Impfstoff "A" erzielte stärkere Bildung von BAV 3-Antikörpern dürfte durch die im Durchschnitt um 1,7 $\log_2$ niedrigeren Ausgangstiter bedingt sein.

3.) Die ermittelten quantitativen Beziehungen zwischen den Antikörperreaktionen von Rindern und Mäusen nach der Impfung mit Rindergrippeimpfstoffen (PI-3: 1:2,0, BAV: 1:0,7 - 1:1,6, Reoviren 1:2,2 - 1:2,3) können als Grundlage künftiger Wirksamkeitsprüfungen von Rindergrippeimpfstoffen dienen.
Die mit den Impfstoffen in Mäusen erzielten Antikörpertiter lassen Rückschlüsse auf die in einer Rinderpopulation zu erwartende immunologische Reaktion zu.

Eine Beurteilung der drei geprüften Impfstoffe "RGV", "A" und "B" auf der Basis ihrer antikörperstimulierenden Potenz in Mäusen bezüglich ihrer Eignung für die Immunprophylaxe der Rindergrippe ergibt folgendes Bild:

1.) Hinsichtlich der Zusammensetzung der Antigenkomponenten ist der Impfstoff "RGV" den Impfstoffen "A" und "B" überlegen. Allerdings beruht dies darauf, daß der Impfstoff "RGV" auf der Basis vorausgegangener ätiologischer Untersuchungen (371) speziell für die Bekämpfung der Rindergrippe entwickelt wurde, während es sich bei den Impfstoffen "A" und "B" um Importe handelt, deren Zusammensetzung vorwiegend auf die Bedürfnisse im Herstellerland zugeschnitten sind.
2.) Ein direkter Vergleich der 3 Impfstoffe ist bezüglich der PI-3-, BAV 3- und Reo 1-Antigene möglich; diese 3 Antigene sind in allen 3 Impfstoffen enthalten.

<u>PI-3-Antigen:</u> Die beste antikörperstimulierende Wirksamkeit erbrachte der Impfstoff "RGV" (Antikörpertiter 2^{-9}) gefolgt von Impfstoff "B" (Titer 2^{-6}) und Impfstoff "A" (Titer 2^{-3}).

Dieser Unterschied trat auch bei den Versuchen mit Rindern zutage.

BAV 3-Antigen: Die Wirkung der 3 Impfstoffe bezüglich der Stimulierung von BAV 3-Antikörpern zeigte nur unwesentliche Unterschiede: die Antikörpertiter waren $2^{-6,5}$ ("B"), $2^{-5,75}$ ("RGV") und $2^{-5,5}$ ("A").

Reo 1-Antigen: Reo 1-Antikörper wurden durch die Impfstoffe "RGV" und "B" gleich gut stimuliert (Antikörpertiter 2^{-6}). Dagegen erwies sich die Reo 1-Komponente des Impfstoffs "A" in der Maus als völlig wirkungslos, und auch in Rindern war ihre Wirkung nicht zufriedenstellend.

Zusammenfassend läßt sich feststellen, daß zur Immunprophylaxe gegen die wichtigsten, bei der Rindergrippe mitbeteiligten Virusarten von den drei geprüften Impfstoffen der Impfstoff "RGV" am besten geeignet ist.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Drei Impfstoffe, auf der Basis inaktivierter Virusarten, die zur Bekämpfung der Rindergrippe eingesetzt werden können, wurden vergleichend in Rindern und Mäusen auf ihre antikörperstimulierende Wirksamkeit untersucht.

1.) Impfstoff "RGV": Ein Versuchsimpfstoff mit folgender Zusammensetzung: PI-3-Virus, Reovirus Serotypen 1 und 3, bovines Adenovirus Serotypen 1, 3 und 5, Aluminiumhydroxid und Saponin.

2.) Impfstoff "A": Ein kommerziell hergestellter Impfstoff, bestehend aus: PI-3-Virus, Reovirus Serotyp 1, bovines Adenovirus Serotyp 3, BVD-MD-Virus und IBR-IPV-Virus, sowie einem nicht näher bezeichneten Suspendierungshilfsmittel.

3.) Impfstoff "B": Ein kommerziell hergestellter Impfstoff, bestehend aus: PI-3-Virus, Reovirus Serotyp 1 und bovinem Adenovirus Serotyp 3, und einem nicht näher bekannten Adjuvans. Die Wirksamkeit dieses Impfstoffes wurde nur in Mäusen untersucht.

Alle Antigenkomponenten des Impfstoffes "RGV" bewirkten in Rindern eine starke Ak-Bildung. Die Zusammensetzung des Impfstoffes ist auf die wichtigsten Erreger der Rindergrippe abgestimmt.

Vom Impfstoff "A" waren bei den Rindern nur die PI-3- und BAV 3-Komponenten zufriedenstellend immunogen wirksam.

Impfstoff "B" führte nach i.p. Inokulation bei Mäusen zu einer stärkeren Ak-Bildung als Impfstoff "A", und zu einer geringeren (PI-3), gleichen (Reo 1) bzw. stärkeren (BAV 3) Ak-Bildung als Impfstoff "RGV".

Die intraperitoneale Impfung der Mäuse wird bei vergleichenden Wirksamkeitsprüfungen von Rindergrippeimpfstoffen als Methode der Wahl betrachtet.

Die Immunreaktionen der geimpften Mäuse zeigten eine direkte Beziehung (quantitativ) zu den durchschnittlichen Antikörper-

titern geimpfter Rinder.

R-M-Quotienten, die aus dem Rind-Maus-Vergleich postvakzinaler Serumantikörpertiter resultierten, können als Grundlage künftiger Wirksamkeitsprüfungen von Rindergrippeimpfstoffen dienen.

5. S U M M A R Y

The antibody-stimulating potency of three inactivated virus vaccines, used for the control of bovine enzootic bronchopneumonia (Rindergrippe), was studied comparatively in cattle and mice.

1.) Vaccine "RGV": An experimental vaccine containing PI-3-virus, reovirus serotypes 1 and 3, bovine adenovirus serotypes 1, 3 and 5, aluminiumhydroxid and saponin.

2.) Vaccine "A": A commercially prepared vaccine containing PI-3-virus, reovirus serotype 1, bovine adenovirus serotype 3, BVD-MD-virus and IBR-IPV-virus in an unspecified suspension.

3.) Vaccine "B": A commercially prepared vaccine containing PI-3-virus, reovirus serotype 1 and bovine adenovirus serotype 3, and an unspecified adjuvans.

Potency evaluation of this vaccine was done in mice exclusively.

All components of vaccine "RGV" caused a strong production of antibodies in cattle. The composition of the vaccine is based on the most important causative agents of bovine enzootic bronchopneumonia.

PI-3- and BAV 3-components of vaccine "A" were solely immunologically satisfactory in cattle.

Following intraperitoneal inoculation in mice vaccine "B" caused a bigger antibody-production than vaccine "A", a smaller (PI-3), an identical (Reo 1) and a bigger (BAV 3) antibody-production than vaccine "RGV".

Intraperitoneal vaccination of mice is considered to be the basis of reference for comparative potency evaluation of bovine enzootic bronchopneumonia-vaccines.

The immune response of vaccinated mice showed a direct relation (quantitative) to the geometric mean antibody titres of vaccinated cattle.

Quotients resulting from the cattle-mouse comparison of post-vaccinal serum titres can be used as a basis for future potency evaluations of bovine enzootic bronchopneumonia-vaccines.

6. LITERATURVERZEICHNIS

1. Abinanti,F.R., A.B.Hoerlein, R.L.Watson and R.J.Huebner, 1961 — Serologic studies of myxovirus parainfluenza 3 virus infection in cattle and the prevalence of antibodies in bovines. J.Immunol. 86, 505.

2. Abinanti,F.R., 1963 — Respiratory disease viruses of cattle and observations on reovirus infections in cattle. Am.Rev.Resp.Dis. 88, 290.

3. Abinanti,F.R., 1968 — Future requirements for prevention and control of bovine respiratory disease in the United States. J.Amer.Vet.Med.Ass. 152, 934.

4. Abinanti,F.R., 1973 — Comments on immune response to antigens of inactivated microbal agents. J.Amer.Vet.Med.Ass. 163, 815.

5. Ahl,R. und O.C.Straub, 1971 — Die lokale Interferonbildung im Respirations- und Genitaltrakt nach experimenteller Infektion mit Rhinotracheitis (IBR)- und Bläschenausschlag (IPV) Virus. Dt.Tierärztl.Wschr. 78, 653.

6. Alieva,N.A., M.K.Ganiev, G.A.Saryev and R.S.Dreizina, 1970 — Experimental adenovirus infection in cattle. Vet.Bull. 40, 843.

7. Avellini,G., G.Castrucci, B.Morettini and V.Cilli, 1968 — Bovine virus diarrhea in Italy. Arch.Ges.Virusforsch. 24, 65.

8. Baker,J.A., J.H.Gillespie, B.E.Sheffi and V.Marshall, 1958 — Simultaneous immunisation of cattle against leptospirosis, virus diarrhea and infectious bovine rhinotracheitis. Corn.Vet. 48, 201.

9. Baker,J.A., C.J.York, J.H.Gillespie and G.B.Mitchell, 1954 — Virus diarrhea in cattle. Am.J.Vet.Res. 15, 525.

10. Bakos,K. und Z.Dinter,1960 — Antikörperreaktion des Rindes auf die Infektion mit dem Virus der Parainfluenza 3. Zbl.Bakt.I,Orig. 180, 1.

11. Bartha,A. and P.Aldasy, 1966 — Further two serotypes of bovine adenoviruses (serotype 4 and 5). Acta vet.Acad.Sc.Hung. 16, 107.

12. Bartha,A., 1967 — Immunization experiments on calves with type 4 bovine adenovirus. Acta vet.Acad.Sc.Hung. 17, 209.

13. Bartha,A., S.Mathe and P.Aldasy,1970 — New serotype 8 of bovine adenoviruses. Acta vet.Acad.Sc.Hung. 20, 399.

14. Bartholomew,R.C., 1973 — Comments on disease control in dairy cattle. J.Amer.Vet.Med.Ass. 163, 834.

15. Beer,J., 1972 — Neue Wege der Immunprophylaxe bei Virustierseuchen. Mon.hefte Vet.Med. 28, 156.

16. Bergmann,H., 1973 — Möglichkeiten der Immunprophylaxe bei virusbedingten Erkrankungen der Atmungsorgane des Rindes. Mon.hefte Vet.Med. 28, 381.

17. Bernhardt,D. und H.-J. Bengelsdorff, 1972 — Ein Beitrag zum Nachweis von Parainfluenza 3-Virusantikörpern aus Serum und Nasensekret von Kälbern und Rindern unter besonderer Berücksichtigung der hämagglutinationshemmenden Antikörper. Zbl.Vet.Med.B, 20, 102.

18. Bittle,J.L., 1968 — Comments on infectious bovine rhinotracheitis immunization. J.Amer.Vet.Med.Ass. 152, 858.

19. Bittle,J.L., 1968 — Vaccination for bovine viral diarrhea-mucosal disease. J.Amer.Vet.Med.Ass. 152, 861.

20. Bittle,J.L. and C.J.Work, 1968 — Combination vaccines for control of bovine respiratory disease. J.Amer.Vet.Med.Ass. 152, 889.

21. Bittle,J.L., 1970 — Field use of bovine vaccines. J.Dairy Sci. 53, 625.

22. Bittle,J.L. and J.A.House, 1973 — Comments on bovine viral diarrhea vaccine reactions. J.Amer.Vet.Med.Ass. 163, 878.

23. Bögel,K. und L.Klinger, 1961 — Virologische Untersuchungsbefunde bei Kälbern mit respiratorischem Syndrom unter besonderer Berücksichtigung der Parainfluenza 3 Virusinfektion. I. Mon.hefte Tierheilkde. 13, 129.

24. Bögel,K. und L.Klinger, 1961 — Virologische Untersuchungsbefunde bei Kälbern mit respiratorischem Syndrom unter besonderer Berücksichtigung der Parainfluenza 3 Virusinfektion. II Mon.hefte Tierheilkde. 13, 162.

25. Bögel,K. und H.Böhm, 1962 — Ein Rhinovirus des Rindes. Zbl.Bakt.I,Orig. 187, 2.

26. Bögel,K. und J.Liebelt, 1962 — Untersuchungen über die Immunisierung von Rindern mit abgeschwächtem Parainfluenza 3 Kulturvirus. Berl.Münch.Tierärztl.Wschr. 75, 423.

27. Bögel,K., G.Korn und R.J.Lorenz, 1962 — Vergleichende Untersuchungen über die Bedeutung verschiedener Virusarten bei respiratorischen Erkrankungen

der Rinder.
Mon.hefte Tierheilkde. 14, 277.

28. Bögel,K. und J.Liebelt, 1963 — Ein Parainfluenza-3-Lebendimpfstoff für Rinder.
Zbl.Bakt.I.Orig. 190, 322.

29. Bögel,K. und J.Liebelt, 1963 — Beziehungen zwischen maternalen Antikörpern und Impferfolg nach der Vakzinierung des Kalbes mit Parainfluenza -3-Virus.
Zbl.Bakt.I.Orig. 191, 133.

30. Bögel,K. und J.Liebelt, 1963 — Über die passive und aktive Immunität des Kalbes gegenüber dem Parainfluenza-3-Virus.
Mon.hefte Tierheilkde. 15, 191.

31. Bögel,K. und H.D.Matheka, 1964 — Untersuchungen über die Stabilisierung und Lagerungsfähigkeit des Parainfluenza-3-Lebendimpfstoffes für Rinder.
Zbl.Bakt.I.Orig. 193, 140.

32. Bögel,K. und Liebelt, 1964 — Untersuchungen über die Applikationsart eines Parainfluenza-3-Lebendimpfstoffes für Rinder.
Berl.Münch.Tierärztl.Wschr. 77, 153.

33. Bognar,K., 1970 — Findings indicative of prenatal active immunization after vaccination of pregnant cows with live virus.
Acta vet.Acad.Sc.Hung. 20, 109.

34. Boyd,J.W., 1972 — The relationship between serum immunglobulin deficiency and disease in calves: a farm survey.
Vet.Rec. 90, 645.

35. Brown,R.D., 1958 — Rinderpest immunity in calves II. Aktive immunization.
J.Hyg. 56, 435.

36. Brown,W.W. and T.L.Chow, 1959 Field trials of infectious bovine rhinotracheitis vaccine. J.Amer.Vet.Med.Ass. 134, 29.

37. Brown,A.L., 1968 Comments on infectious bovine rhinotracheitis immunization. J.Amer.Vet.Med.Ass. 152, 856.

38. Brown,L.N. and F.K.Ramsey, 1968 Comments on complications following vaccination of cattle against bovine respiratory disease. J.Amer.Vet.Med.Ass. 152, 903.

39. Braun,R.K., B.I.Osburn and J.W.Kendrick 1973 Immunologic response of bovine fetus to bovine viral diarrhea virus. Am.J.Vet.Res. 34, 1127.

40. Bürki,F., 1963 Parainfluenza 3 virus infection in calves. Path.Microbiol. 26, 717.

41. Bürki,F., 1973 Experimental adenovirus vaccines in cattle. J.Amer.Vet.Med.Ass. 163, 897.

42. Buschmann,H., 1973 Der Einfluß des Antigens auf die Stärke und Qualität der Immunantwort. Berl.Münch.Tierärztl.Wschr. 86, 81.

43. Butler,J.E., 1971 Review of the bovine immunoglobulin. J.Dairy Sci. 54, 1315.

44. Butler,J.E., 1973 Synthesis and distribution of immunoglobulins. J.Amer.Vet.Med.Ass. 163, 795.

45. Byrne,J.R., F.R.Abinanti and R.J.Huebner, 1961 Experimental immunization of cattle with myxovirus parainfluenza 3 vaccine. Corn.Vet. 51, 211.

46. Cabasso,V.J., Brown,R.G. and H.R.Cox, 1957 — Zit. nach Schwarz,A.J.F., C.J.York, L.W.Zirbel and L.A.Estela, 1957.

47. Cabasso,V.J., 1968 — Comments on potency evaluation of bovine respiratory disease vaccines. J.Amer.Vet.Med.Ass. 152, 845.

48. Campbell,B., R.M.Porter and W.E.Petersen, 1950 — Plasmacytosis of the bovine udder during colostrum secretion and experimental cessation of milking. Nature, London 166, 913.

49. Casaro,A.P.E., J.W.Kendrick and P.C.Kennedy, 1971 — Response of the bovine fetus to bovine viral diarrhea-mucosal disease. Am.J.Vet.Res. 32, 1543.

50. Casselberry,N.H., 1968 — Present status of immunisation procedures for infectious bovine rhinotracheitis. J.Amer.Vet.Med.Ass. 152, 853.

51. Chennekatu,P.B., D.E.Tyler and F.K.Ramsey, 1967 — Characteristics of a condition following vaccination with bovine virus diarrhea vaccine. J.Amer.Vet.Med.Ass. 150, 46.

52. Chow,T.L., J.A.Morello and N.V.Owen, 1964 — Abortion experimentally induced in cattle by infectious bovine rhinotracheitis virus. J.Amer.Vet.Med.Ass. 144, 1005.

53. Chow,T.L., 1968 — Comments on infectious bovine rhinotracheitis immunization. J.Amer.Vet.Med.Ass. 152, 857.

54. Chow,T.L., 1972 — Duration of immunity in heifers inoculated with infectious bovine rhinotracheitis virus. J.Amer.Vet.Med.Ass. 160, 51.

55. Cilli,V. e G.Castrucci, 1970 — Aspetti virologici e immunologici della Malattia delle Mucose del bovino. Boll.Ist.Sieroter.Milan. 49, 341.

56. Classik,L.G. and A.L.Fernelius, 1970 — Bovine viral diarrhea virus: Neutralizing antibodies in a calf obtained by cesarian section from cow which was infected. Am.J.Vet.Res. 31, 393.

57. Clegg,F.C., J.H.I.Phillip and G.J.Halliday, 1972 — The use of killed vaccines in the control of virus pneumonia of calves. VII. Internat.Tagung, Rinderkrankheiten, London, 1972.

58. Coggins,L., J.H.Gillespie, D.S.Robson, W.V.Phillips, W.C.Wagner and J.A.Baker, 1961 — Attenuation of virus diarrhea virus (Strain Oregon C 24 V) for vaccine purposes. Corn.Vet. 51, 539.

59. Coggins,L., 1964 — Standardization of virus neutralization test for bovine virus diarrhea. Am.J.Vet.Res. 25, 103.

60. Cohen,S. and R.R.Porter, 1964 — Structure and biological activity of immunoglobulins. Adv.Immunol. 4, 267.

61. Cohen,S. and C.Milstein, 1967 — Structure and biological properties of immunoglobulins. Adv.Immunol. 7, 1.

62. Cole,A.M., 1971 — Experimental adenovirus pneumonia in calves. Austr.Vet.J. 47, 306.

63. Coman,I., 1969 — Experimental immunization and interferental treatment with a trivalent IBR-BVD-PI-3 vaccine. Arch.Vet. (Bukarest) 6, 29.

64. Cottereau,P., 1966 — Maladie des Muqueuses des Bovins Epizootologie - Prophylaxie. Bull.Off.Int.Epiz. 66, 405

65. Cvetnić,S. and E.Topolnik, 1972 Field experiences with an attenuated parainfluenza 3 vaccine. VII.Internat.Tagung, Rinderkrankheiten, London, 1972.

66. Darbyshire,J.H., 1962 Agargel diffusion studies with a mucosal disease of cattle. II. Serological relationship between a mucosal disease and swine fever. Res.Vet.Sci. 3, 125.

67. Darbyshire,J.H., 1963 Zit. nach Darbyshire,J.H. and H.G.Pereira, 1964.

68. Darbyshire,J.H. and H.G.Pereira, 1964 An adenovirus precipitating antibody present in some sera of different animal species and its association with bovine respiratory disease. Nature, London 201, 895.

69. Darbyshire,J.H., A.R.Jennings, A.R.Omar, P.S.Dawson and P.H.Lamont, 1965 Association of adenovirus with bovine respiratory disease. Nature, London 208, 307.

70. Darbyshire,J.H., A.R.Jennings, P.S.Dawson, P.H.Lamont and A.R.Omar, 1966 The pathogenesis and pathology of infection in calves with a strain of bovine adenovirus type 3. Res.Vet.Sci. 7, 81.

71. Darbyshire,J.H., 1968 Bovine adenoviruses. J.Amer.Vet.Med.Ass. 152, 786.

72. Darbyshire,J.H., D.A.Kinch and A.R.Jennings, 1969 Experimental infection of calves with bovine adenovirus types 1 and 2. Res.Vet.Sci. 10, 39.

73. Davidson,A.P. and D.Stone, 1972 A multivalent calf virus pneumonia vaccine. VII.Internat.Tagung, Rinderkrankheiten, London, 1972.

74. Dawson,P.S., 1963 — The nature of substances present in normal bovine sera inhibiting the activity of parainfluenza 3 virus. J.comp.Path. 73, 428.

75. Dawson,P.S., J.H.Darbyshire and P.H.Lamont, 1965 — The inoculation of calves with parainfluenza 3 virus. Res.Vet.Sci. 6, 108.

76. Dawson,P.S., 1966 — Persistence of maternal antibodies to parainfluenza 3 virus. J.comp.Path. 76, 373.

77. Diernhofer,K., 1956 — Die infektiöse Bronchitis und Bronchopneumonie des Rindes und ihre Behandlung. Wien.Tierärztl.Mschr. 43, 256.

78. Dixon,F., W.O.Weigle and J.J.Vazquez, 1961 — Metabolism and mammary secretion of serum proteins in the cow. Lab.Invest. 10, 216.

79. Dunne,H.W., S.M.Ajinkya, G.R.Bubash and L.C.Griel, 1973 — Parainfluenza 3 and bovine enteroviruses as possible important causative factors in bovine abortion. Am.J.Vet.Res. 34, 1121.

80. Eggers,H.J., P.J.Gomatos and I.Tamm, 1962 — Agglutination of bovine erythrocytes: A general characteristic of reovirus type 3. Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 110, 879.

81. Fastier,L.B. and B.F.Smith, 1962 — Infectious bovine rhinotracheitis-infectious pustular vaginitis: virus isolation and vaccination studies. N.Z.Vet.J. 10, 11.

82. Fennestad,K.L. and C.Borg-Petersen, 1957 — Leptospira antibody production by bovine fetuses. Nature, London 180, 1210.

83. Fernelius,A.L., 1966 — Heterogeneity of bovine antibodies against bovine viral diarrhea (BVD) viruses and against a soluble antigen of BVD produced in cell cultures. J.Immunol. 96, 488.

84. Fernelius,A.L., L.G.Classick and R.L.Smith, 1971 — Evaluation of a soluble antigen vaccine prepared from bovine viral diarrhea-mucosal disease virus-infected cell cultures. Am.J.Vet.Res. 32, 1963.

85. Fernelius,A.L., L.G.Classick and R.L.Smith, 1972 — Evaluation of β-propiolactone-inactivated and chloroform-treated virus vaccine against bovine viral diarrhea-mucosal disease. Am.J.Vet.Res. 33, 1421.

86. Flack,D.E., J.K.Young and F.R.Clark, 1969 — Postvaccinal reactions in cattle: Myth or reality? Mod.Vet.Pract. 5, 43.

87. Fox,F.H., 1968 — Comments on management of respiratory diseases of dairy cattle. J.Amer.Vet.Med.Ass. 152, 932.

88. Frank,G.H. and R.G.Marshall, 1971 — Relationship of serum and nasal secretion-neutralization antibodies in protection of calves against parainfluenza 3 virus. Am.J.Vet.Res. 32, 1707.

89. Frei,W., 1972 — Allgemeine Pathologie für Tierärzte und Studierende der Tiermedizin. Parey-Verlag Berlin.

90. Freund,J., K.J.Thomson, H.B.Hough, H.E.Sommer and T.M.Posani, 1948 — Antibody formation and sensitization with the aid of adjuvants. J.Immunol. 60, 383.

91. Freund,J., 1956 — The mode of action of immunologic adjuvants. Adv.Tuberc.Res. 7, 130.

92. Fuller,D.A., 1965 — When to vaccinate for IBR-VD. Mod.Vet.Pract. 46, 40.

93. Fuller,D.A., 1968 — Comments on complications following vaccination against bovine respiratory disease. J.Amer.Vet.Med.Ass. 152, 904.

94. Gale,C. and H.R.Smith, 1958 — Studies of shipping fever of cattle. I.The experimental exposure of cattle with various cultures of pasteurella. Am.J.Vet.Res. 19, 815.

95. Gale,C., A.H.Hamdy and A.L.Trapp, 1963 — Studies on an experimental vaccine for prophylaxis of shipping fever. J.Amer.Vet.Med.Ass. 142, 884.

96. Gale,C., 1968 — Bovine parainfluenza 3 immunization procedures. J.Amer.Vet.Med.Ass. 152, 871.

97. Gale,C., 1970 — Role of parainfluenza 3 in cattle. J.Dairy Sci. 53, 621.

98. Gale,C., 1973 — Rationale for application of multiple components vaccines. J.Amer.Vet.Med.Ass. 163, 836.

99. Gates,G.A., T.C.Cesario, J.W.Ebert, R.L.Kriel, H.T.Wulff, J.D.Poland, D.E.Gutekunst and T.D.Y.Chin, 1970 — Neutralizing antibodies in experimentally induced respiratory infection in calves. Am.J.Vet.Res. 31, 217.

100. Gibson,C.D. and R.Zemjanis, 1973 — Immune response of the bovine fetus to several antigens. Am.J.Vet.Res. 34, 1277.

101. Gilbert,Y. et P.Saurat, 1970 — Le complexe rhinotracheite infectieuse des bovins. L'Expansion Scientifique Francaise Paris.

102. Gillespie,J.H., J.A.Baker and K.McEntee, 1960 — A cytopathogenic strain of virus diarrhea virus. Corn.Vet. 50, 73.

103. Gillespie,J.H., L.Coggins, J.Thompson and J.A.Baker, 1961 — Comparison by neutralization tests of strains of virus isolated from virus diarrhea and mucosal disease. Corn.Vet. 51, 155.

104. Gillespie,J.H., R.Jensen, D.G.McKercher, G.Peacock, R.Bristol, N.H.Casselberry, J.R.Collier, F.H.Fox, J.Heil, D.R.Mackey, F.Oberst, E.A.Pope, L.M.Jones, A.Freeman and L.Bieber, 1961 — Report of the panel of the symposium on immunity to the bovine respiratory disease complex. J.Amer.Vet.Med.Ass. 151, 1481.

105. Gillespie,J.H., 1968 — Comments on bovine viral diarrhea-mucosal disease. J.Amer.Vet.Med.Ass. 152, 768.

106. Gilmour,N.J.L., A.Drysdale, R.G.Stevenson, D.E.Hore and J.G.Brotherston, 1968 — Reaction of young adult sheep to vaccination and infection with myxovirus parainfluenza 3. J.comp.Path. 78, 463.

107. Goedemans,W.T., 1970 — The immunogenicity of some experimental parainfluenza 3 - BVD - pasteurella haemolytica vaccines in calves and mice. Zbl.Vet.Med.B, 17, 508.

108. Goldstein,M.A. and N.M.Tauraso, 1970 — Effect of formalin, -propiolactone, merthiolate and ultraviolet light upon influenza virus infectivity,

chicken cell agglutination, haemagglutination and antigenicity. Appl.Microbiol. 19, 290.

109. Gosset,F.O., C.Gale, R.P.Gregory and T.Matsuoka, 1970 — Serologic response to a formalinizised and adjuvanted parainfluenza 3 antigen in calves. J.Amer.Vet.Med.Ass. 157, 174.

110. Gowans,J.L. and D.D.McGregor, 1965 — Zit. nach Raff,M.C., 1973.

111. Granston.A.E. and C.J.Welter, 1968 — Preliminary evaluation of a trivalent bovine vaccine. Vet.Med. 63, 58.

112. Güneri,S., 1968 — Vergleichende serologische Untersuchungen über Beziehungen zwischen verschiedenen Mucosal Disease-Virusdiarrhoe-Virusstämmen. Vet.Med.Diss., München.

113. Gustafson,D.P., H.E.Amstutz, P.M.Braddy, F.H.Fox, A.Freeman, C.Gale, J.H.Gillespie, L.E.Hnason, W.F.Harris, A.B.Hoerlein, R.F.Kahrs, D.G.McKercher, P.A.O'Berry, F.H.Oberst, G.V.Peacock, J.D.Todd and R.L.West, 1973 — Report of the panel of the colloquium on immunity to selected infectious diseases of cattle. J.Amer.Vet.Med.Ass. 163, 781.

114. Gutekunst,D.E. and W.A.Malmquist, 1964 — Complement fixing and neutralizing antibody response to bovine viral diarrhea and hog cholera antigens. Canad.J.comp.Med.Vet.Sci. 28, 19.

115. Gutekunst,D.E., 1968 — Comments on vaccination for bovine viral diarrhea-mucosal disease. J.Amer.Vet.Med.Ass. 152, 865.

116. Gutekunst,D.E., I.M.Paton and F.J.Volenec, 1969 — Parainfluenza 3 vaccine in cattle: Comparative efficacy of intranasal and intramuscular routes. J.Amer.Vet.Med.Ass. 155, 1879.

117. Hale,J.H., 1961 — Duration of immunity in virus disease. Adv.Immunol. 1, 263.

118. Hamdy,A.H. and A.L.Trapp, 1964 — Experimental immunization of cattle against shipping fever. Corn.Vet. 54, 41.

119. Hamdy,A.H., N.B.King and A.L.Trapp, 1964 — Attempted immunization of cattle against shipping fever: A field trial. Am.J.Vet.Res. 26, 897.

120. Hamdy,A.H. and A.L.Trapp, 1964 — Immunization of cattle against shipping fever: Experimental exposure. Am.J.Vet.Res. 25, 1648.

121. Hamdy,A.H., C.C.Morill and H.H.Hoyt, 1965 — Shipping fever of cattle. North Centr.Reg.Res.Bull. 165, 1.

122. Hammer,D., 1961 — Die Immunisierung trächtiger Rinder gegen Pneumokokken-Polysaccharide und die biologische Bedeutung der im Kolostrum ausgeschiedenen spezifischen Antikörper. Zbl.Vet.Med.B, 8, 369 u. 405.

123. Hamparian,V.V., F.V.Washko, A.Ketler and M.R.Hilleman, 1961 — Evaluation of an SF-4 (shipping fever) virus vaccine in cattle. J.Immunol. 87, 139.

124. Haralambiev,H., I.Simov und K.Mermerski, 1970 — Versuche zur Immunisierung der Kälber mit dem Schafstamm Myxovirus Parainfluenzae-3. Zbl.Vet.Med. 17, 970.

125. Hartley,J.W., W.P.Rowe and R.J.Huebner, 1961 — Recovery of reovirus from wild and labaratory mice. Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 108, 390.

126. Heddlestone,K.L., R.C.Reisinger and L.P.Watko, 1962 — Studies on the transmission and etiology of bovine shipping fever. Am.J.Vet.Res. 23, 548.

127. Herbert,W.J., 1970 — Veterinary Immunology. Blackwell Scientific Publications, Oxford.

128. Hetrick,F.M., S.C.Chang, R.J.Byrne and P.A.Hansen, 1963 — The combined effect of pasteurella multocida and myxovirus parainfluenza-3 upon calves. Am.J.Vet.Res. 24, 939.

129. Hilleman,M.R., 1963 — Respiratory viruses and respiratory virus vaccines. Am.Rev.Resp.Dis. 87, 165.

130. Hilleman,M.R., 1965 — Immunologic, chemotherapeutic and interferon approaches to control of virus disease. Am.J.Med. 38, 751.

131. Hoerlein,A.B., M.E.Mansfield, F.R.Abinanti and R.J.Huebner, 1959 — Studies on shipping fever of cattle. Parainfluenza 3 virus antibodies in feeder calves. J.Amer.Vet.Med.Ass. 135, 153.

132. Hoerlein,A.B., 1973 — Preconditioning of beef cattle. J.Amer.Vet.Med.Ass. 163, 825.

133. Holper,J.C., 1968 — Comments on bovine viral diarrhea-mucosal disease. J.Amer.Vet.Med.Ass. 152, 868.

134. House,J.A. and J.A.Baker, 1968 — Comments on combination vaccines for bovine respiratory disease. J.Amer.Vet.Med.Ass. 152, 893.

135. House,J.A. and M.Manley, 1973 — Comments on passive immunity to bovine viral diarrhea. J.Amer.Vet.Med.Ass. 163, 819.

136. Hubbert,W.T., J.H.Byrner, A.L.Fernelius, G.H.Frank and P.C.Estes, 1973 — Viral infection of the bovine fetus and its environment. Arch.Ges.Virusforsch. 41, 86.

137. Humphrey,J.H. and R.G.White, 1970 — Kurzes Lehrbuch der Immunologie. Blackwell Scientific Publications, Oxford.

138. Hunyady,G., 1963 — Zur Substitutionsprophylaxe mit Kolostrum Serumpool bei agammaglobulinämischen Kälbern. Vet.Med.Diss., Zürich.

139. Ide,P.R., R.G.Thomson and W.J.B.Ditchfield, 1969 — Experimental adenovirus infection in calves. Canad.J.comp.Med.Vet.Sci. 33,1.

140. Jackson,G.G. and R.L.Muldoon, 1973 — Viruses causing common respiratory infections in man. II.Enteroviruses and paramyxoviruses. J.Infect.Dis. 128, 387.

141. Jackson,G.G. and R.L.Muldoon, 1973 — Viruses causing common respiratory infections in man. IV.Reoviruses and adenoviruses. J.Infect.Dis. 128, 811.

142. Jensen,K.E., B.E.Peeler and W.G.Dulworth, 1962 — Immunization against parainfluenza infections. J.Immunol. 89, 216.

143. Johnston,R.V. and G.J.McLean, 1967 — Zit. nach Bittle,J.L. and C.J.York, 1968.

144. Kaeberle,M.L., 1973 — Immune response to antigens of inactivated microbal agents. J.Amer.Vet.Med.Ass. 163, 810.

145. Kärber,G., 1931 — Ein Beitrag zur kollektiven Behandlung pharmakologischer Reihenversuche. Arch.Exp.Path.Pharmakol. 162, 480.

146. Kahrs,R.F. and J.A.Baker, 1965 — Combined vaccine for dairy cattle. Proc.US Livest.San.Ass. 69,177.

147. Kahrs,R.F., 1965 — Zit.nach Bittle,J.L., 1968.

148. Kahrs,R.F., 1966 — Determination of a 95 per cent antigenic dose for bovine virus diarrhea vaccine. Am.J.Vet.Res. 27, 1551.

149. Kahrs,R.F., 1966 — Immunization programs for dairy cattle. Corn.Vet. 56, 288.

150. Kahrs,R.F., D.S.Robson and J.A.Baker, 1966 — Epidemiological considerations for the control of bovine virus diarrhea. Proc.US Livest.San.Ass. 70, 145.

151. Kahrs,F.R., M.R.Hilleman and J.D.Todd, 1973 — Observations on the intranasal vaccination of pregnant cattle against infectious bovine rhinotracheitis and parainfluenza 3 virus infection. J.Amer.Vet.Med.Ass. 163, 437.

152. Kelling,C.L., I.A.Schipper, G.E.Strum, R.B.Carlson and J.E.Tilton, 1973 — Infectious bovine rhinotracheitis (IBR) abortion observations on incidence in vaccinated and non-vaccinated and exposed cattle. Corn.Vet. 63, 383.

153. Kelling,C.L., I.A.Schipper, and C.N.Haugse, 1973 — Antibody response in calves following administration of attenuated infectious bovine rhinotracheitis (IBR) virus. Canad.J.comp.Med.Vet.Sci. 37, 309.

154. Kendrick,J.W., C.J.York and D.G.McKercher, 1956 — A controlled field trial of a vaccine for infectious bovine rhinotracheitis. Proc.US Livest.San.Ass. 60, 32.

155. Kendrick,J.W. and O.C.Straub, 1967 — Infectious bovine rhinotracheitis-infectious pustular vulvovaginitis

156. Kendrick,J.W., 1971 — Bovine viral diarrhea-mucosal disease virus infection in pregnant cows. Am.J.Vet.Res. 32, 533.

157. Kendrick,J.W., L.Schneider and O.C.Straub, 1971 — Placental reaction to the infectious bovine rhinotracheitis-infectious pustular vulvovaginitis virus. Am.J.Vet.Res. 32, 1045.

158. Kendrick,J.W. and O.C.Straub, 1972 — The secondary immune response of the bovine lymph node to the infectious bovine rhinotracheitis-infectious pustular vulvovaginitis virus. Zbl.Bakt.I, Orig. 219, 415.

159. Kendrick,J.W. and B.I.Osborne, 1973 — Immunologic response of the bovine fetus to inactivated infectious bovine rhinotracheitis-infectious pustular vulvovaginitis virus. Am.J.Vet.Res. 34, 1567.

160. Kendrick,J.W. and C.E.Franti, 1974 — Bovine viral diarrhea: Decay of colostrum-conferred antibody in the calf. Am.J.Vet.Res. 35, 589.

161. Kennedy,P.C., 1973 — Comments on reactivation of a bovine herpesvirus after corticosteroid treatment. J.Amer.Vet.Med.Ass. 163, 851.

162. Kerr,W.R., 1956 — Aktive immunity in very young calves. Vet.Rec. 68, 467.

163. Ketler,A., V.V.Hamparian and M.R.Hilleman, 1961 — Laboratory and field investigations of bovine myxovirus parainfluenza 3 virus and vaccine. J.Immunol. 87, 126.

164. Kickhöfen,B., D.K.Hammer and D.Scheck, 1968 — Isolation and characterisation of γG Type immunoglobulins from bovine

serum and colostrum.
Hoppe-Seyler's Z.Physiol.Chem. 349,1755.

165. King,N.B., B.H.Edgington, L.C.Ferguson, D.L.Thomas jr., W.D.Pounden and E.Klosterman, 1955 — Preliminary results in the control and treatment of shipping fever complex in beef cattle. J.Amer.Vet.Med.Ass. 127, 320.

166. King,N.B.,C.Gale, H.R.Smith, A.H.Hamdy, V.L.Sanger, W.D. Pounden and E.W.Klosterman, 1958 — Stress factors in shipping fever. Vet.Med. 53, 67.

167. King,N.B. and C.Gale, 1963 — Studies on myxovirus parainfluenza 3 vaccine for prevention of shipping fever in cattle. J.Amer.Vet.Med.Ass. 142, 881.

168. Kirkpatrick,R.J., 1968 — Comments on combination vaccines for bovine respiratory disease. J.Amer.Vet.Med.Ass. 152, 896.

169. Kisery,J. and A.Bartha, 1972 — A simple micro method for virus neutralizing antibody assay and virus titre measurement by tissue culture technique. Acta vet.Acad.Sc.Hung. 22, 263.

170. Kißling,U., 1972 — Vergleichende Untersuchungen über die Antikörperbildung bei Kaninchen, Meerschweinchen und Huhn nach Impfung mit attenuierten und inaktivierten Virusstämmen der Parainfluenza-3 und der Bovinen Virusdiarrhoe-Mucosal Disease. Vet.Med.Diss., München.

171. Klaus,G.G.B., A.Bennett and E.W.Jones, 1969 — A quantitative study of the transfer of colostral immunoglobulins to the newborn calf. Immunol. 16, 293.

172. Kniazeff,A.J. and W.R.Pritchard, 1960 — Antigenic relationship in the bovine viral diarrhea-mucosal disease complex. Proc.US Livest.San.Ass. 62, 344.

173. Kniazeff,A.J. and V.Riemer, 1967 — γ-Globulin in fetal bovine sera: significance in virology. Nature, London 214, 805.

174. Kolar,J.R., I.L.Shechmeister and L.E.Strack, 1973 — Field experiment with formalin killed virus vaccine against infectious bovine rhinotracheitis, bovine viral diarrhea and parainfluenza 3. Am.J.Vet.Res. 34, 1469.

175. Kolar,J.R., I.L.Shechmeister and W.G.Kammlade, 1972 — Use in cattle of formalin killed polyvalent vaccine with adjuvant against infectious bovine rhinotracheitis, bovine viral diarrhea and parainfluenza 3 viruses. Am.J.Vet.Res. 33, 1415.

176. Kruse,V., 1970 — Immunoglobulin absorption from colostrum by neonative calves. Animal Prod. 12, 619.

177. Kubin,G., 1966 — Immunisierung gegen die "Handelspneumonie" der Rinder. IV.Inernat.Tagung Buiatrik, Zürich.

178. Kucera,C.J., 1968 — Comments on bovine parainfluenza 3 immunization procedures. J.Amer.Vet.Med.Ass. 152, 877.

179. Lambert,G., C.G.Boylan,and C.Rea, 1967 — Immunogenicity of bovine rhinotracheitis—virus diarrhea vaccine in cattle inoculated simultaneously with concentrated homologous antiserum. Vet.Med. 62, 1087.

180. Lambert,G., A.L.Fernelius and N.F.Cheville, 1969 — Experimental bovine viral diarrhea in neonatal calves. J.Amer.Vet.Med.Ass. 154, 181.

181. Lambert,G. and D.A.Fuller, 1970 — Postvaccinal problems in cattle. Mod.Vet.Pract. 51, 34.

182. Lambert,G., 1973 — Bovine viral diarrhea: Prophylaxis and postvaccinal reactions. J.Amer.Vet.Med.Ass. 163, 874.

183. Lambert,G., A.W.McClurkin and A.L.Fernelius, 1974 — Bovine viral diarrhea in the neonatal calf. J.Amer.Vet.Med.Ass. 164, 287.

184. Lamont,P.H., J.H.Darbyshire, P.S.Dawson, A.R.Omar and A.R.Jennings, 1968 — Pathogenesis and pathology of infection with strains of reovirus types 1 and 2. J.comp.Path. 78, 23.

185. Larson,K.A. and K.R.Schell, 1969 — Toxicity and antigenicity of shipping fever vaccines in calves. J.Amer.Vet.Med.Ass. 155, 495.

186. LaSalle,B., 1968 — License requirements for vaccines for bovine respiratory disease. J.Amer.Vet.Med.Ass. 152, 838.

187. LaSalle,B. and R.J.Price, 1973 — Rationale for licensing requirements for veterinary biologics. J.Amer.Vet.Med.Ass. 163, 845.

188. Liebermann,H., W.Wittmann und S.Tesmer, 1971 — Beziehungen zwischen Mucosal Disease-Virusdiarrhoe und Schweinepest und ihre Bedeutung für die Praxis. 5.Internat.Wissenschaft.Tagung, Leipzig.

189. Liess,B. und K.Bögel, 1969 — Rinderpest, Virusdiarrhoe-Mucosal-disease, Bösartiges Katarrhalfieber Differentialdiagnostische Möglichkeiten. Dt.Tierärztl.Wschr. 76, 138.

190. LoGrippo,G.A. and F.W.Hartmann, 1955 — Antigenicity of β-propiolactone inaktivated virus vaccines. J.Immunol. 75, 123.

191. LoSpalluto,J., W.Miller, B.Dorward and C.W.Fink, 1962 — The formation of macroglobulin antibodies. I.Studies in human adults. J.Clin.Invest. 41, 1415.

192. Ludwig,C. und H.Liebermann, 1970 — Serologische Querschnittsuntersuchungen zum Nachweis von Antikörpern gegen Adenoviren beim Rind mit Hilfe der Komplementbindungsreaktion. Mon.hefte Vet.Med. 25, 229.

193. Lutz,E.E., D.L.Hughes and W.G.Schmutz, 1968 — Calfhood viral diseases and early vaccination studies. Vet.Med. 63, 1067.

194. Mach,J.P., J.J.Pahud and H.Islicker, 1969 — IgA with "secretory piece" in bovine colostrum and saliva. Nature, London 223, 952.

195. Mach,J.P. and J.J.Pahud, 1971 — Secretory IgA, a major immunoglobulin in most bovine external secretions. J.Immunol. 106, 552.

196. Madin,S.H., C.J.York and D.G.McKercher, 1956 — Isolation of the infectious bovine rhinotracheitis virus. Science 124, 721.

197. Malmquist,W.A., A.L.Fernelius and D.E.Gutekunst, 1968 — Interference of bovine viral diarrhea virus by hog cholera virus in swine kidney cell cultures. Am.J.Vet.Res. 26, 1316.

198. Malmquist,W.A., 1968 — Bovine viral diarrhea-mucosal disease: Etiology pathogenesis and applied immunity. J.Amer.Vet.Med.Ass. 152, 763.

199. Mann,J.J., R.D.Rosen, J.R.Lehrich and J.A.Kasel, 1967 — The effect of kaolin on immunoglobulins: An improved technique to remove the nonspecific serum inhibitor of reovirus haemagglutination. J.Immunol. 98, 1136.

200. Marshall,R.G. and G.H.Frank, 1971 — Neutralizing antibody in serum and nasal secretion of calves exposed to parainfluenza 3 virus. Am.J.Vet.Res. 32, 1699.

201. Marx,K., 1974 — Persönliche Mitteilungen.

202. Matthaeus,W. und K.Bögel, 1964 — Vergleichende elektrophoretische Untersuchungen der Serumproteine und immunologische Betrachtung nach experimenteller Virusinfektion beim kolostrumfrei aufgezogenen Kalb. Zbl.Vet.Med. 4, 273.

203. Mattioli,C.A. and T.B.Thomasi, 1973 — The life span of IgA plasma cells from the mouse intestine. J.Exp.Med. 138, 452.

204. Matsuoka,T., C.Gale, E.E.Ose and R.N.Berkman, 1966 — Calfhood immunization against an experimental parainfluenza and pasteurella challenge. Canad.J.comp.Med.Vet.Sci. 30, 228.

205. Matsuoka,T., T.M.Folkerts and C.Gale, 1972 — Evaluation in calves of an inaktivated bovine rhinotracheitis and parainfluenza 3 vaccine combined with pasteurella bacterin. J.Amer.Vet.Med.Ass. 160, 333.

206. Mattson,D.E., 1973 — Naturally occuring infection of calves with a bovine adenovirus. Am.J.Vet.Res. 34, 623.

207. Matumoto,M., Y.Inaba, Y.Tanaka and T.Omori, 1968 — Bovine diarrhea virus. Experimental infection in cattle. Jap.J.Microbiol. 12, 231.

208. Mayr,A., 1963 — Virusinfektionen bei Kälbern. Tierärztl.Umsch. 18, 16.

209. Mayr,A., I.Kalich und B.Mehnert, 1964 — Kälberkrankheiten. Wien.Tierärztl.Mon.schr. 51, 74.

210. Mayr,A., 1964 — Virale Kälbererkrankungen, Erreger und Bekämpfung. Com.Off.Internat. des Epiz.No.28.

211. Mayr,A., G.Wizigmann, I.Wizigmann und T.Schiesser, 1965 — Untersuchungen über infektiöse Kälbererkrankungen während der Neugeborenen-Phase. Zbl.Vet.Med.B. 12, 1.

212. Mayr,A. et A.Rojahn, 1968 — Facteurs favorisant et facteurs inhibitant l'infection dans l'élevage industriel. Bull.Off.Epiz. 69, 1813.

213. Mayr,A., G.Wizigmann, H.Schels und P.Plank, 1968 — Entwicklung und Erprobung eines Kombinationsimpfstoffes gegen die Parainfluenza-3-, Mucosal Disease- und Pasteurella hämolytica Infektion des Rindes. Zbl.Vet.Med.B. 16, 454.

214. Mayr,A., 1973 — Infektionsprophylaxe bei der Kälber- und Bullenmast. Vortrag, Tierärztl.Fortbildungsveranst., Plattling.

215. McClelland,L., B.Hampil, V.V.Hamparian, L.Potash, A.Ketler and M.R.Hilleman, 1961 — Development and apprisal of potency of SF-4 (shipping fever) virus vaccine. J.Immunol. 87, 134.

216. McFeely,R.A., A.M.Merrit and E.L.Stearly, 1968 — Abortion in a dairy herd vaccinated for infectious bovine rhinotracheitis. J.Amer.Vet.Med.Ass. 153, 657.

217. McKercher,D.G., 1963 — Studies on the etiologic agents of infectious bovine rhinotracheitis and Bläschenausschlag (coital vesicular exanthema). Am.J.Vet.Res. 24, 501.

218. McKercher,D.G. and E.M.Wada, 1964 — The virus of infectious bovine rhinotracheitis as a cause of abortion in cattle. J.Amer.Vet.Med.Ass. 144, 136.

219. McKercher,D.G., 1968 — Comments on infectious bovine rhinotracheitis. J.Amer.Vet.Med.Ass. 152, 760.

220. McKercher,D.G., J.K.Saito, G.L.Grenshaw and R.B.Bushnell, 1968 — Complications in cattle following vaccination with a combined viral diarrhea-infectious bovine rhinotracheitis vaccine. J.Amer.Vet.Med.Ass. 152, 1621.

221. McKercher,D.G. and G.L.Grenshaw, 1971 — Comparative efficacy of intranasally and parenterally administered infectious bovine rhinotracheitis vaccine. J.Amer.Vet.Med.Ass. 159, 1362.

222. McKercher,D.G., J.K.Saito, C.E.Franti, E.M.Wada and G.L.Grenshaw, 1972 — Response of calves to parainfluenza 3 vaccines administered nasally or parenterally. Am.J.Vet.Res. 33, 721.

223. Meszaros,I., 1971 — Viruserkrankungen der Geschlechtsorgane von Besamungsbullen und ihre Bekämpfung durch Vakzination. Dt.Tierärztl.Wschr. 78, 103.

224. Merryman,M.J.G.S., 1971 — Serumimmunglobulins in newborn colves before and after feeding. Canad.J.comp.Med.Vet.Sci. 35, 269.

225. Messerli,J. und H.Fey, 1973 — Messung des klassenspezifischen Antikörper- und Immunglobulingehaltes von Kolostrumseren von Protein immunisierten Rindern. Zbl.Vet.Med.B. 20, 177.

226. Metzger,H., 1970 — Structure and function of γM macroglobulins. Adv.Immunol. 12, 57.

227. Miller,N.J., 1955 — Infectious necrotic rhinotracheitis of cattle. J.Amer.Vet.Med.Ass. 126, 463.

228. Miller,J.F.A.P., 1966 — Immunity in the fetus and the newborn. Brit.Med.Bull. 22, 21.

229. Milstein,C.P. and A.Feinstein, 1968 — Comparative studies of two types of bovine immunoglobulin G heavy chains. Biochem.J. 107, 559.

230. Moeller,D.J., 1969 — What's new with bovine respiratory problems? J.Amer.Vet.Med.Ass. 154, 1179.

231. Möhlmann,H., 1973 — Immunbiologische Grundlagen moderner Immunisierungsverfahren. Mon.hefte Vet.Med. 28, 150.

232. Mohanty,S.B. and M.G.Lillie, 1964 — Evaluation of a bovine myxovirus parainfluenza 3 (SF 4) vaccine in calves. Am.J.Vet.Res. 25, 1653.

233. Mohanty,S.B. and M.G.Lillie, 1965 — Experimental infection of calves with a bovine adenovirus. Proc.Soc.Exp.BiolMed. 120, 679.

234. Morein,B., 1970 — Immunity against parainfluenza 3 in cattle: IgA in nasal secretions. Int.Arch.Allergy 39, 403.

235. Morein,B., 1972 — Immunity against parainfluenza 3 virus in cattle: Immunoglobulins in serum and nasal secretions after subcutaneous and nasal vaccination. Z.Immun.Forsch. 144, 63.

236. Neumann,W. und U.Dierks, 1972 — Das Auftreten hämagglutinations-hemmender Antikörper gegen das Virus der Parainfluenza-3 bei Rindern im Kreis Friesland. Dt.Tierärztl.Wschr. 79, 79.

237. Nitzschke,E., B.Dicke und R.Priefler, 1971 — Untersuchungen über die Verbreitung von Infektionen mit verschiedenen Virusarten (MD-VD, IBR-IPV, PI-3, Enterovirus) und Bedsonia in den Rinderbeständen von Rheinland-Pfalz. Tierärztl.Umsch. 26, 597.

238. N.N., 1964 — V 32, Standard requirements for bovine rhinotracheitis vaccine and this fraction of combined products. Vet.Biol.Div.ARS, USDA.

239. N.N., 1964 — P 47, Standard bacterial test procedures for life virus vaccines. Vet.Biol.Div.ARS, USDA.

240. N.N., 1967 — V 56, Standard requirements for bovine virus diarrhea vaccine and

this fraction of combined products. Vet.Biol.Div.ARS, USDA.

241. N.N., 1973 — Möglichkeiten und Probleme der Bekämpfung des Bläschenausschlags des Rindes bzw. der Rhinotracheitis der Rinder und Kälber. Arbeitsgem.dt.Rinderzüchter, Jahrestagung 1973.

242. Oellermann,R.A., J.Hoogenhont and P.Carter, 1972 — Phagocytic activity of peritoneal exudate cells from mice. Onderstepoort J.Vet.Res. 39, 197.

243. Olafson,P. and C.G.Rickard, 1947 — Further observation on the virus diarrhea (new transmissible disease) of cattle. Corn.Vet. 37, 104.

244. Osburne,B.J., 1973 — Immune responsiveness of the fetus and neonate. J.Amer.Vet.Med.Ass. 163, 801.

245. Osburne,B.J., G.H.Stabenfeld, A.A.Ardans, C.Trees and M.Sawyer, 1974 — Perinatal immunity in calves. J.Amer.Vet.Med.Ass. 164, 295.

246. Owen,N.V., T.L.Chow and J.A.Molello, 1968 — Infectious bovine rhinotracheitis: Relationship of level of maternal antibody titer to incidence of fetal death and abortion. Am.J.Vet.Res. 29, 1967.

247. Owen,J.J.T., 1972 — Zit. nach Raff,M.C., 1973.

248. Palotay,J.L., 1953 — Zit. nach King et al. 1955.

249. Parrot,D.M.V. and M.DeSousa, 1971 — Thymus-dependent and thymus-independent populations: Origin, migratory patterns and lifespan. Clin.exp.Immunol. 8, 663.

250. Peacock,G.V., 1968 — Test requirements for biologics used against bovine respiratory disease. J.Amer.Vet.Med.Ass. 152, 833.

251. Peacock,G.V., 1968 — Comments on bovine parainfluenza 3 immunization procedures. J.Amer.Vet.Med.Ass. 152, 879.

252. Peacock,G.V., 1968 — Comments on complications that arise after vaccination against bovine respiratory disease. J.Amer.Vet.Med.Ass. 152, 905.

253. Peacock,G.V., 1973 — Comments on application of multiple components vaccine. J.Amer.Vet.Med.Ass. 163, 839.

254. Penhale,W.J. and G.Christie, 1969 — Quantitative studies on bovine immunoglobulins. Res.Vet.Sci. 10, 493.

255. Penhale,W.J., G.Christie, A.D.McEwan, E.W.Fisher and I.E.Selman, 1970 — Quantitative studies on bovine immunoglobulins. Brit.Vet.J. 126, 30.

256. Peter,C.P., D.E.Tyler and F.K.Ramsey, 1967 — Characteristics of a condition following vaccination with bovine diarrhea vaccine. J.Amer.Vet.Med.Ass. 150, 46.

257. Pette,J., G.Wizigmann und W.Weisser, 1964 — Untersuchungen über die Wirksamkeit eines Parainfluenza-3-Lebendimpfstoffes bei Kälbern. Berl.Münch.Tierärztl.Wschr. 77, 273.

258. Phillip,J.H.I., 1970 — Virus pneumonia in calves. Vet.Rec. 86, 280.

259. Phillip,J.H.I., F.G.Clegg, G.J.Halliday, M.H.Cross, R.Hardy and B.A.Maund, 1973 — An examination of two bovine respiratory disease vaccines. Vet.Rec. 92, 420.

260. Phillips,C.E., 1968 — Potency evaluation of vaccines used against bovine respiratory disease. J.Amer.Vet.Med.Ass. 152, 842.

261. Phillips,C.E., 1967 — Laboratory tests and host animal vaccine evaluation. Symp.Series Immunbiol.Stand. 10, 43.

262. Phillips,C.E., 1967 — Evaluation multiple antigen vaccines. Symp.Series Immunbiol.Stand. 7, 245.

263. Plimpton,R.F.jr., 1966 — Studies on combination vaccines for dairy cattle. Vet.Bull. 37, 28.

264. Porter,P., 1973 — Functional heterogeneity of the bovine immune system. J.Amer.Vet.Med.Ass. 163, 789.

265. Pritchard,W.R., 1963 — The bovine viral diarrhea-mucosal disease complex. Adv.Vet.Sci. 8, 1.

266. Provost,A., 1970 — Observation sur les muco-anticorps nasaux des bovins. Rev.Elév.Méd.vet.Pays trop. 23, 283.

267. Provost,A. and C.Borredon, 1972 — Trials of intranasal rinderpest vaccination of calves with or without colostral immunity. Rev.Elév.Méd.vet.Pays trop. 25, 141.

268. Raff,M.C., 1973 — T and B lymphocytes and immune responses. Nature, London 242, 19.

269. Ramsey,F.K. and N.H.Chivers, 1953 — Mucosal disease of cattle. North Amer.Vet. 34, 629.

270. Reisinger,R.C., K.L.Heddlestone and C.A.Manthei, 1959 — A myxovirus (SF 4) associated with shipping fever of cattle. J.Amer.Vet.Med.Ass. 135, 147.

271. Reusch,M., 1966 — Papierelektrophoretische Untersuchungen über die quantitativen Verhältnisse der Serumfraktionen des Blutes von Muttertieren und Kälbern, sowie des Kolostrums. Vet.Med.Diss., Hannover.

272. Riedel,F., 1967 — Untersuchungen über den Aussagewert der Komplementbindungsreaktion bei der Diagnose der PI-3 Infektion des Rindes. Vet.Med.Diss., München.

273. Roberts,G.E., A.N.Worden and E.T.R.Evans, 1954 — Observations on some effects of colostrum deprivation in the calf. J.comp.Path. 64, 283.

274. Robinson,V.B., J.W.Newberne and F.E.Mitchell, 1961 — Vaccination of pregnant cattle with infectious bovine rhinotracheitis vaccine. Vet.Med. 56, 437.

275. Robson,D.S., J.H.Gillespie and J.A.Baker, 1960 — The neutralization test as an indicator of immunity to bovine virus diarrhea. Corn.Vet. 50, 503.

276. Roitt,I., 1971 — Essential Immunity. Blackwell Scientific Publications, Oxford.

277. Rondhuis,P.R., 1970 — Bovine Adenovirussen. Drukkerij Uitgeverig G.van Dijk. N.V., Breukelen, Niederlande.

278. Rosen,L. and F.R.Abinanti, 1960 — Natural and experimental infection of cattle with human types of reoviruses. Am.J.Hyg. 71, 250.

279. Rosen,L., 1960 — Serologic grouping of reovirus by haemagglutination inhibition. Am.J.Hyg. 71, 242.

280. Rosen,L., F.R.Abinanti and J.F.Hovis, 1963 — Further observations on the natural infection of cattle with reoviruses. Am.J.Hyg. 77, 38.

281. Rosen,L., 1968 — Reoviruses. Virology Monographs, Springer Verlag Wien, Bd. 1.

282. Rosenquist,B.D. and R.W.Loan, 1969 — Production of circulating interferon in the bovine spezies. Am.J.Vet.Res. 30, 1293.

283. Rosenquist,B.D. and A.W.Dobson, 1974 — Multiple viral infection in calves with acute bovine respiratory tract disease. Am.J.Vet.Res. 35, 363.

284. Rosner,S.F., 1968 — Infectious bovine rhinotracheitis: Clinical review, immunity and control. J.Amer.Vet.Med.Ass. 153, 1631.

285. Rosner,S.F., 1968 — Complications following vaccination of cattle against infectious bovine rhinotracheitis, bovine viral diarrhea-mucosal disease and parainfluenza type 3. J.Amer.Vet.Med.Ass. 152, 898.

286. Rosner,S.F., 1971 — Bovine parainfluenza type 3 virus infection and pasteurellosis. J.Amer.Vet.Med.Ass. 159, 1375.

287. Rossi,C.R. and G.K.Kiesel, 1971 — Microtiter tests for detecting antibody in bovine serum to parainfluenza 3 virus, infectious bovine rhinotracheitis virus and bovine viral

diarrhea virus.
Appl.Microbiol. 22, 32.

288. Rossi,C.R., G.K.Kiesel and V.R.Emrick, 1973 — Distribution of antibody to bovine adenovirus type 1 in Alabama cattle as determined by micro-serum neutralisation test.
Am.J.Vet.Res. 34, 841.

289. Ruckerbauer,G.M., A.Girard, G.L.Bannister and P.Boulanger, 1971 — Studies on bovine viral diarrhea: Serum neutralisation, complement fixation and immunofluoreszenz.
Canad.J.comp.Med.Vet.Sci. 35, 230.

290. Rweyemamu,M.M. and R.H.Johnson, 1969 — The development of a vaccine for bovine herpes mammillitis.
Res.Vet.Sci. 10, 419.

291. Rweyemamu,M.M., 1970 — Viral vaccines in veterinary medicine.
Vet.Bull. 40, 73.

292. Sabin,A.B., 1959 — Reoviruses: A new group of respiratory and enteritic viruses formerly classified as ECHO type 10, is described.
Science, 130, 1387.

293. Sampson,G.R., C.Gale, N.G.Elliston, H.P.Grueter, J.W.McAscill and L.V.Tonkinson, 1972 — Bovine rhinotracheitis, parainfluenza 3 vaccine with pasteurella bacterin as the diluent.
Vet.Med. 67, 899.

294. Sampson,G.R., T.Matsuoka, R.D.Olson, J.A.Miyat and L.V.Tonkinson, 1972 — Clinical appraisal of an inactivated bovine rhinotracheitis, parainfluenza 3 vaccine with pasteurella bacterin.
Vet.Med. 67, 1354.

295. Sattar.S.A., E.H.Bohl, A.L.Trapp and A.H.Hamdy, 1967 — In utero infection of bovine fetuses with myxovirus parainfluenza 3.
Am.J.Vet.Res. 28, 45.

296. Saurat,P., Y.Gilbert et J.Chantal, 1972 — La maladie des muqueuses. L'Expansion Scientifique Francaise Paris.

297. Schell,K., R.P.Sanderson, J.W.Whalen and J.L.Bittle, 1972 — The antigenicity of multivalent vaccine for bovine respiratory disease. Corn.Vet. 62, 101.

298. Schipper,I.A., 1958 — Zit. nach Pritchard,W.R., 1963.

299. Schmidt,N.J., J.Dennis, M.N.Hoffmann and E.H.Lenette, 1964 — Inhibitors of echovirus and reovirus hemagglutination. II.Serum and phospholipid inhibitors. J.Immunol. 93, 377.

300. Schoop,G. und G.Wachendorfer, 1962 — Die Parainfluenza-Infektion der Kälber und ihre Behandlung mit Rekonvaleszentenserum. Dt.Tierärztl.Wschr. 69, 416.

301. Schultz,R.D., H.W.Dunne and C.E.Heist, 1971 — Breed difference in the immune response of newborn calves. Am.J.Vet.Res. 32, 1337.

302. Schultz,R.D., H.W.Dunne and C.E.Heist, 1971 — Ontogeny of the bovine immune response. J.Dairy Sci. 54, 1321.

303. Schultz,R.D., 1973 — Comments on the immune response of the fetus and neonate. J.Amer.Vet.Med.Ass. 163, 804.

304. Schultz,R.D., 1973 — Developmental aspects of the fetal bovine immune response: A review. Corn.Vet. 63, 507.

305. Schwarz,A.J.F., C.J.York, L.W.Zirbel and L.A.Estela, 1957 — Modification of infectious bovine rhinotracheitis (IBR) virus in tissue culture and development of a vaccine. Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 96, 453.

306. Schwarz,A.J.F., L.W.Zirbel, L.A.Estela and C.J.York, 1958 — Propagation and modification of infectious bovine rhinotracheitis (IBR) virus in porcine kidney tissue culture. Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 97, 680.

307. Sever,J.L., 1962 — Application of a microtechnique to viral serological investigations. J.Immunol. 88, 320.

308. Sheffy,B.E. and S.Rodman, 1973 — Activation of latent infectious bovine rhinotracheitis infection. J.Amer.Vet.Med.Ass. 163, 850.

309. Shefki,M.D., F.A.Edgson and G.S.Raingill, 1968 — Experimental vaccination of calves with a bovine parainfluenza 3 virus vaccine. Vet.Rec. 82, 764.

310. Shefki,M.D. and F.A.Edgson, 1968 — Experimental vaccination of calves with a bovine myxovirus parainfluenza 3 vaccine. Vet.Rec. 82, 765.

311. Shefki,M.D. and W.P.J.Benge, 1969 — A trivalent vaccine against virus pneumonia of calves.

312. Shope,R.E.jr., 1970 — Bovine virus diarrhea, infectious bovine rhinotracheitis complex. J.Dairy Sci. 53, 619.

313. Shope,R.E.jr., 1970 — Limitations and possible side effects of bovine virus vaccines. J.Dairy Sci. 53, 628.

314. Simonyi,E., K.Bognar, J.Biro and Z.Palatka, 1967 — Immunization experiments against bovine viral diarrhea. I.The production and application of hyperimmunserum. Acta vet.Acad.Sc.Hung. 18, 237.

315. Simonyi,E., K.Bognar, J.Biro and Z.Palatka, 1967 — Immunization experiments against bovine viral diarrhea. II.Aktive immunization. Acta vet.Acad.Sc.Hung. 18, 245.

316. Siskind,G.W. and B.Benacerraf, 1969 — Cell selection by antigen in the immune response. Adv.Immunol. 10, 1.

317. Smith,A.N. and D.G.Ingram, 1965 — Immunological response of young animals. II.Antibody production in calves. Canad.Vet.J. 6, 226.

318. Smith,H.W., J.A.O'Neil and E.J.Simmons, 1967 — The immunglobulin content of the serum of calves in England. Vet.Rec. 80, 664.

319. Smith,P.E. and F.E.Mitchell, 1968 — Bovine virus diarrhea vaccination of young calves nursing immune dams. Vet.Med. 63, 457.

320. Soulebot,J.P., H.G.Petermann, J.Terre, G.Chappuis et M.Thillerot, 1972 — Vaccin et vaccination à l'aide de virus vivants et inactifes contre les affections pulmonaires des bovins. Developm.Biol.Stand. in Vorbereitg.

321. Staley,T.E., E.W.Jones and L.J.Bush, 1971 — Maternal transport of immunoglobulins to the calf. J.Dairy Sci. 54, 1323.

322. Steck,F.T., 1962 — Die Übertragung von Gammaglobulinen auf das neugeborene Kalb mit dem Kolostrum. Vet.Med.Diss., Bern.

323. Steck,F., J.Nicolet und E.Schipper, 1971 — Ätiologische Untersuchungen über virale und bakterielle Infektionen in Kälber- und Rindermastbetrieben. Berl.Münch.Tierärztl.Wschr. 84, 21.

324. Steinbach,G., 1973 — Moderne Immunisierungsverfahren bei der Jungrinderaufzucht. Mon.hefte Vet.Med. 28, 196.

325. Sterzl,J. and A.M.Silverstein, 1967 — Developmental aspects of immunity. Adv.Immunol. 6, 337.

326. Steves,F.E. and J.D.Baker, 1970 — Intranasal inokulation of feedlot calves with TELC strain parainfluenza 3. Vet.Med. 65, 333.

327. Stone,D. and A.P.Davindson, 1972 — Five viruses associated with the calf pneumonia complex. VII.Internat.Tagung, Rinderkrankheiten, London, 1972.

328. Storch,D. 1910 — Über Bläschenausschlag der Rinder und seine Bekämpfung. Dt.Tierärztl.Wschr. 18, 130.

329. Straub,O.C., 1969 — Die Übertragung viraler Antikörper durch das Kolostrum. Tierärztl.Umsch. 24, 571.

330. Straub,O.C., 1971 — Die durch IBR-IPV-Viren hervorgerufenen Krankheiten beim Rind und ihre Bekämpfung mit einem neuen Lebendimpfstoff. Habil.Schrift.

331. Straub,O.C. und N.Mäckle, 1971 — Versuche mit einem Lebendimpfstoff gegen Bläschenausschlag in einer Besamungsstation. Berl.Münch.Tierärztl.Wschr. 84, 481.

332. Straub,O.C., H.Frerking and R.Kramer, 1972 — Results of vaccination against bovine rhinotracheitis and infectious pustular vulvovaginitis (IBR/IPV) in a dairy herd. VII.Internat.Tagung, Rinderkrankheiten, London, 1972.

333. Straub,O.C., 1972 — Der Übergang von der passiven zur aktiven Immunität des Kalbes. Dt.Tierärztl.Wschr. 79, 613.

334. Straub,O.C., H.Frerking und R.Kramer, 1973 — Impfung eines großen Rinderbestandes gegen Bläschenausschlag und Rhinotracheitis. Dt.Tierärztl.Wschr. 80, 73.

335. Stormont,G., 1972 — The role of maternal effects in animal breeding: I.Passive immunity in newborn animals. J.Animal Sci. 35, 1275.

336. Sullivan,A.L., R.A.Prendergast, L.J.Antunes, A.M.Silverstein and T.B.Thomasi, 1969 — Characterization of the serum and secretory immune system of the cow and sheep. J.Immunol. 103, 334.

337. Svehag,S.E. and B.Mandel, 1964 — The formation and properties of poliovirus neutralizing antibody. J.Exp.Med. 119, 1.

338. Sweat,R.L., 1968 — Comments on bovine viral diarrhea-mucosal disease. J.Amer.Vet.Med.Ass. 152, 867.

339. Sweat,R.L., 1968 — Bovine myxovirus parainfluenza 3 and its role in respiratory disease. J.Amer.Vet.Med.Ass. 153, 1639.

340. Swift,B.L. and P.C.Kennedy, 1972 — Experimentally induced infection of in utero bovine fetus with bovine parainfluenza 3 virus. Am.J.Vet.Res. 33, 57.

341. Tamoglia,T.W., A.L.Tellejohn, C.E.Phillips and F.B.Wilkinson, 1965 — Further evaluation of hog cholera immunizing agents bovine virus diarrhea and hog cholera vaccine MLV, TCO. Proc.US Livest.San.Ass. 69, 385.

342. Tamoglia,T.W., 1968 — Laboratory evaluation of bovine respiratory disease vaccines for safety. J.Amer.Vet.Med.Ass. 152, 847.

343. Taussig,M.J., 1972 — Antigenic competition. Microbiol.and Immunol. 60, 125.

344. Thomas,L.H., 1973 — Observations on the role of viruses in pneumonia of calves.

345. Thomson,G.R. and M.Savan, 1963 — Studies on virus diarrhea and mucosal disease of cattle. Canad.J.comp.Path.Vet.Sci. 27, 207.

346. Thorsen,J., R.Sanderson and J.Bittle, 1969 — Bovine parainfluenza 3 vaccine studies. Canad.J.comp.Path.Vet.Sci. 33, 105.

347. Todd,J.D., 1971 — Bovine immune response to respiratory infections of viral etiology. J.Dairy Sci. 54, 1334.

348. Todd,J.D., F.J.Volenec and I.M.Paton, 1971 — Intranasal vaccination against infectious bovine rhinotracheitis: Studies on early onset of protection and use of the vaccine in pregnant cows. J.Amer.Vet.Med.Ass. 159, 1370.

349. Todd,J.D., F.J.Volenec and I.M.Paton, 1972 — Interferon in nasal secretions and sera of calves after intranasal administration of avirulent infectious bovine rhinotracheitis virus: Association of interferon in nasal secretions with early resistance to challenge with virulent virus. Infection and Immunity 5, 699.

350. Todd,J.D., 1973 — Immune response to parenteral and intranasal vaccination. J.Amer.Vet.Med.Ass. 163, 807.

351. Thomasi,T.B.jr. and J.Bienenstock, 1968 — Secretory immunoglobulins. Adv.Immunol. 9, 1.

352. Trainor,P.D., S.B.Mohanty and F.M.Hetrick, 1966 — Experimental infection of calves with reovirus type 1. Vet.Bull. 36, 577.

353. Tribe,G.W., A.D.Kanarek and G.White, 1968 — Preliminary studies on the development of a bovine parainfluenza 3 virus vaccine. Res.Vet.Sci. 9, 152.

354. Tribe,G.W., A.D.Kanarek, J.B.Kerry and G.White, 1969 — A combined bovine parainfluenza and adenovirus vaccine. Vet.Rec. 84, 299.

355. Tyler,D.E. and F.K.Ramsey, 1965 — Comparative pathologic, immunologic and clinical responses produced by selected agents of the bovine mucosal disease-virus diarrhea complex. Am.J.Vet.Res. 26, 903.

356. Uhr,J. and M.S.Finkelstein, 1963 — Antibody formation. J.Exp.Med. 117, 457.

357. Vidor,T., 1973 — Vergleichende Untersuchungen über die Inaktivierung von Reovirus Serotyp 1, unter Erhalt der immunisierenden Eigenschaften. Vet.Med.Diss., München.

358. Vukotic,M.D., 1973 — Some aspects of bovine immunoglobulin G heterogeneity. Acta Vet.Belgrad 22, 253.

359. Wachendörfer,G., 1965 — Zur Diagnose der Mucosal Disease des Rindes mit Hilfe des Agar-Gel Testes. Dt.Tierärztl.Wschr. 72, 403.

360. Walker,R.V.L. and P.Olafson, 1947 — Failure of virus diarrhea of cattle to immunize against rinderpest. Corn.Vet. 37, 107.

361. Ward,G.M., S.J.Roberts, K.McEntee and J.H.Gillespie, 1969 — A study of experimentally induced bovine viral diarrhea-mucosal disease in pregnant cows and their progeny. Corn.Vet. 59, 525.

362. Weisser,W., 1963 — Experimentelle Untersuchungen über die Wirksamkeit eines Parainfluenza-3-Lebendimpfstoffes bei Kälbern. Vet.Med.Diss., München.

363. Wellemans,G. et J.Leunen, 1966 — Diarrhée virale des bovins. Bull.Off.Int.Epiz. 66, 395.

364. Wellemans,G. und J.Leunen, 1968 — Adenovirussen en ademhalingstoornissen bij runderen. Vlaams diergenesk.Tijdschr. 37, 125.

365. Wizigmann,G., 1962 — Vorkommen und Verbreitung der infektiösen bovinen Rhinotracheitis und der Parainfluenza-3 des Rindes in Südbayern. Vet.Med.Diss., München.

366. Wizigmann,G. und B.Schiefer, 1966 — Isolierung von Rhinoviren bei Kälbern und Untersuchungen über die Bedeutung dieser Viren für die Entstehung von Kälbererkrankungen. Zbl.Vet.Med.B. 13, 37.

367. Wizigmann,G. und E.Weiß, 1967 — Über das Auftreten der Mucosal Disease bei Rindern in Bayern. Tierärztl.Umsch. 3, 153.

368. Wizigmann,G., 1971 — Zur Bekämpfung der Rindergrippe durch Immunprophylaxe und zur Frage einer eventuellen Koordination

dieser Prophylaxe mit anderen Impfungen.
Prakt.Tierarzt, Sonderdruck.

369. Wizigmann,G., 1971 — Unveröffentlichte Ergebnisse.

370. Wizigmann,G. und G.Reinhardt, 1971 — Untersuchungen über Reovirus-Infektionen beim Rind in der Bundesrepublik Deutschland. Zbl.Vet.Med.B. 18, 564.

371. Wizigmann,G., 1972 — Untersuchungen über Ätiologie, Epidemiologie und Bekämpfung der Rindergrippe. Habil.Schrift, München.

372. Wizigmann,G., 1973 — Unveröffentlichte Ergebnisse.

373. Wizigmann,G., 1974 — Unveröffentlichte Ergebnisse.

374. Wizigmann,G., 1974 — Unveröffentlichte Ergebnisse.

375. Woods,G.T., S.K.Sinha, J.A.McKeown and C.A.Brandly, 1961 — Preshipment vaccination of feeder cattle with bovine parainfluenza vaccine. J.Amer.Vet.Med.Ass. 139, 1208.

376. Woods,G.T., D.Segre, C.Barthel, A.Brandly and J.C.Holper, 1962 — The role of viral respiratory disease of cattle. II.A respiratory disease in feeder cattle vaccinated with pasteurella bacterin and bovine parainfluenza 3 vaccine before shipment. Am.J.Vet.Res. 23, 987.

377. Woods,G.T., M.E.Mansfield, D.Segre, J.C.Holper, C.A.Brandley and C.Barthel, 1962 — The role of viruses in respiratory disease in cattle. III. Respiratory disease in beef calves vaccinated with bovine myxovirus parainfluenza 3 (SF 4) vaccine. Am.J.Vet.Res. 23, 832.

378. Woods,G.T., M.E.Mansfield, G.Cmarik, G.Marquis and D.Segre, 1964 — Vaccination of beef calves with bovine parainfluenza 3 (SF 4) vaccine in an adjuvant. Am.J.Vet.Res. 25, 704.

379. Woods,G.T., M.E.Mansfield, G.Cmarik and K.Sibinovic, 1967 — Effect of vaccination against bovine myxovirus parainfluenza 3 before weaning and the time of weaning on the natural history of respiratory disease in beef calves. Am.Rev.Resp.Dis. 95, 278.

380. Woods,G.T., M.E.Mansfield, G.Cmarik, M.Zinzilieta and G.Marquis, 1968 — Vaccination of beef calves before weaning with a life-virus bovine myxovirus parainfluenza 3 vaccine. Am.J.Vet.Res. 29, 1349.

381. Woods,G.T., M.E.Mansfield and G.Cmarik, 1973 — Effects of bovine viral diarrhea and parainfluenza 3 virus vaccine on development of respiratory tract disease in calves. J.Amer.Vet.Med.Ass. 163, 742.

382. York,C.J. and A.J.F.Schwarz, 1956 — Immunological studies on infectious bovine rhinotracheitis. Proc.US Livest.San.Ass. 60, 149.

383. York,C.J., A.J.F.Schwarz and L.A.Estela, 1957 — Isolation and identification of infectious bovine rhinotracheitis virus in tissue culture. Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 94, 740.

384. York,C.J., A.J.F.Schwarz, L.W.Zirbel and L.A.Estela, 1958 — Infectious bovine rhinotracheitis vaccine. Vet.Med. 53, 522.

385. York,C.J., S.F.Rosner and C.J.McLean, 1960 — Evaluations of vaccines for virus diarrhea of cattle. Proc.US Livest.San.Ass. 64, 339.

386. York,C.J., 1968 — Infectious bovine rhinotracheitis. J.Amer.Vet.Med.Ass. 152, 758.

387, Zuschek,F. and T.L.Chow, 1961 — Immunogenity of 2 infectious bovine rhinotracheitis vaccines. J.Amer.Vet.Med.Ass. 131, 236.

L E B E N S L A U F

Geboren:	7. März 1946 in Tübingen
Vater:	Friedrich Schmidt.
Mutter:	Alwine Schmidt, geb. Kehrer.
Volksschule:	1953 bis 1957 in Tübingen-Hagelloch und in Tübingen.
Gymnasium:	1957 bis 1966: Joh. Kepler-Gymnasium in Tübingen.
Abitur:	1966 am Joh. Kepler-Gymnasium in Tübingen.
Wehrdienst:	1966. Krankheitsbedingte frühzeitige Entlassung.
Studium:	1967 bis 1968: Universität Stuttgart-Hohenheim, Agrarwissenschaft. 1968 bis 1972: Universität München, Tiermedizin.
Tierärztliche Prüfung:	15. Februar 1973.
Bestallung:	7. Juni 1973.

Herrn Professor Dr. A. Mayr bin ich besonders für das Vertrauen dankbar, das er mir entgegenbrachte, indem er mir das Thema überließ und sich persönlich dafür einsetzte, daß ich die Arbeit an diesem Institut durchführen konnte.

Herrn Dr. G. Wizigmann danke ich für die ständige intensive wissenschaftliche Betreuung und zahlreiche Literaturhinweise.

Die unermüdliche Hilfe von Frau B. Haas ermöglichte letzlich die Bearbeitung des umfangreichen Untersuchungsmaterials.